

**UNIVERSIDAD DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

**Proteínas del líquido cefalorraquídeo normal y patológico :  
estudios electro e inmunoelectroforéticos**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Hugo, Liaño Martínez**

**Madrid, 2015**

~~Poll 612.824.1~~  
~~L 55h~~

# **PROTEINAS DEL LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO**

## **NORMAL Y PATOLOGICO**

### **ESTUDIOS ELECTRO E INMUNOELECTROFORETICOS**



Tesis para el Doctorado en Medicina  
por

**HUGO LIAÑO MARTINEZ**

**1969**  
A decorative flourish below the year 1969.

## INDICE

	Páginas
PROLOGO .....	7
INTRODUCCION .....	9
LAS PROTEINAS DEL CEFALORRAQUIDEO EN EL INDIVIDUO NORMAL .....	13
Técnica empleada para la electroforesis del l.c.r. en el presente trabajo .....	23
Técnica de inmunoelectroforesis utilizada en el presente trabajo .....	25
Comparación entre los perfiles electroforéticos de l.c.r. y suero.	26
Estudios personales sobre la electroforesis del l.c.r. en la población normal .....	29
Proteínas plasmáticas del l.c.r. normal .....	47
Proteínas no plasmáticas del l.c.r. normal .....	54
Intentos personales de demostración de proteínas no plasmáticas en el l.c.r. normal .....	57
LAS PROTEINAS DEL L.C.R. EN LA ESCLEROSIS MULTIPLE .....	61
Estudios personales en la esclerosis múltiple .....	69
Intentos personales de demostración de proteínas peculiares en el l.c.r. de la esclerosis múltiple .....	85
Investigación de proteínas no plasmáticas en el l.c.r. de enfermos de esclerosis múltiple .....	86
Observaciones en nuestra serie de esclerosis múltiple .....	86
LAS PROTEINAS DEL L.C.R. EN LA NEUROLUES .....	91
Estudios personales en la neurolúes .....	94
Observaciones en nuestra serie de neurolúes .....	99
LAS PROTEINAS DEL L.C.R. EN LA PANENCEFALITIS ESCLEROSANTE SUBAGUDA .....	101
Estudios personales en la panencefalitis esclerosante subaguda	107
Resultados .....	110
Observaciones en nuestra serie de panencefalitis esclerosante subaguda .....	111

	Páginas
PERFIL "TRASUDATIVO" DEL L.C.R. ....	123
LAS PROTEINAS DEL L.C.R. EN EL SINDROME DE GUI- LLAIN-BARRE ....	137
EL LLAMADO PERFIL DEGENERATIVO ....	145
Observaciones personales del perfil degenerativo ....	148
ELECTROFORESIS DEL L.C.R. EN OTRAS AFECCIONES NEU- ROLOGICAS ....	153
RESUMEN Y CONCLUSIONES ....	159
BIBLIOGRAFIA ....	169

## INTRODUCCION

Los primeros intentos de separación electroforética en l.c.r. fueron realizados por Hesselvik en 1939, llegando exclusivamente a la conclusión de que sus proteínas estaban constituidas por diversas fracciones.

El principal iniciador de estos estudios fue Kabat, quien en 1942 llegó a observaciones de importancia sorprendente. No encontró gammaglobulina ni fibrinógeno en el l.c.r. normal, observando la presencia de gammaglobulina en el l.c.r. de los enfermos afectados de sífilis nerviosa y esclerosis múltiple. Igualmente pudo detectar la presencia de paraproteínas en el l.c.r. de dos enfermos de mieloma.

Scheid, en 1944, buscó la posible relación existente entre las alteraciones de la curva de oro coloidal y los hallazgos electroforéticos del l.c.r., comentando, por otra parte, la similitud encontrada entre los proteinogramas de suero y l.c.r. en casos de tumores cerebrales, meningitis, polirradiculoneuritis y poliomiелitis, y atribuyó la identidad de proteínas de ambos flúidos a posibles modificaciones en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica.

El problema crucial en este tipo de estudios quedó planteado en 1948 por Kafka, al preguntarse cuál podría ser el origen de la gammaglobulina que encontraba elevada en el l.c.r. de algunos enfermos, siendo normal cuantitativamente en el suero de los mismos.

Booij, en trabajos publicados entre 1949 y 1952, mencionó, al igual que Kabat hiciera años antes, la ausencia de gammaglobulina en el l.c.r. de sujetos normales y su presencia, en proporción considerable, en los enfermos de meningitis y sífilis.

Es llamativo, por tanto, considerar que los más interesantes datos de utilidad clínica, así como las hipótesis de investigación más importantes, estaban planteados en los trabajos de los primeros autores, y no queda menos que preguntarse acerca de cuáles han podido ser los motivos para que no hayan sido resueltos parcial o íntegramente hasta esta última década. Pensamos que la primera y fundamental de las razones ha sido de orden técnico;

la consecución de un buen sistema de concentración ha asegurado, por una parte, su aplicación a la práctica clínica, garantizando, además, una situación óptima para el análisis de cada una de las peculiaridades del E.E.F. La necesidad de más de 100 c.c. de l.c.r. en aquellos primeros estudios, carentes los respectivos autores de material adecuado para la concentración, hacía imposible el empleo del método en la práctica diaria.

El escaso poder resolutivo de los primeros substratos, sobre los que tenía lugar la electroforesis, fue otra importante barrera para la correcta valoración de los resultados. Actualmente, con el empleo del agar según el método introducido por Wieme en 1959, o con la utilización del acetato de celulosa, simple o gelatinizado, la calidad de los proteinogramas ha podido mejorarse notablemente. Del mismo modo, el hallazgo de la inmunoelectroforesis a partir de los trabajos de Grabar, Williams, Uriel, Burtin, etc., la técnica de doble difusión, según Ouchterlony, y el empleo de los recientes conocimientos bioquímicos, han permitido la identificación de las proteínas del l.c.r. normal o patológico.

Solucionada la mayor parte de los problemas técnicos que planteaba el l.c.r. para su estudio electroforético, ha sido posible introducir en la clínica neurológica una interpretación más racional del estado de las proteínas de este fluido en determinados procesos patológicos. Sin embargo, el camino inicial ha sido laborioso, al tener que dotarse cada laboratorio de unos valores controles de acuerdo con el sustrato utilizado para electroforesis y representar —una vez más— una difícil cuestión la obtención de l.c.r. de sujetos aceptados como normales.

Del mismo modo, y antes de hacer uso de datos obtenidos en los l.c.r. patológicos, ha sido preciso conocer con mayor exactitud la naturaleza de las proteínas existentes en el l.c.r. normal, su cuantía y, sobre todo, su procedencia. Fue preciso someter a revisión el antiguo concepto según el cual el l.c.r. era un filtrado del plasma a través de una membrana establecida por la barrera hematoencefálica, y distintos investigadores iniciaron la búsqueda de hipotéticas proteínas “específicas” del l.c.r. Las técnicas de obtención de sueros específicos anti-l.c.r., seguidas de la absorción de los mismos por suero humano, han ido en los últimos años unificando los hallazgos, hasta demostrarse la presencia de proteínas de naturaleza aparentemente no plasmática en el l.c.r. de los sujetos normales. Por el contrario, otras proteínas llamativamente distintas a las del suero humano, por la movilidad o cuantía presentadas en los exámenes electroforéticos pudo comprobarse que se trataba de proteínas existentes en el suero humano con idénticas características antigénicas, pero sobre las cuales la ba-

rrera hematoencefálica ejercía una cierta selectividad a su paso, o eran sometidas a determinadas vaciaciones en su estructura íntima, que tenían lugar en el seno mismo del sistema nervioso central.

Una vez conocidos, al menos en una buena parte de sus aspectos, el l.c.r. y la barrera hematoencefálica, los hallazgos patológicos han ido centrándose fundamentalmente en una doble vertiente: por un lado, las alteraciones globales y nula o escasamente selectivas; por otra parte, lo que podríamos denominar disproteínorraquias selectivas, especialmente afectando a las gammaglobulinas. El primero de estos dos tipos mencionados sugería la presencia de una alteración inespecífica en los mecanismos de filtración plasma-l.c.r., confirmada por la correspondencia establecida con distintos procesos de naturaleza inflamatoria aguda, vascular, tumoral, etc. El segundo tipo de hallazgos se encontraba especialmente en la esclerosis múltiple, panencefalitis esclerosante subaguda, neurolúes, etc., es decir, en afecciones en las cuales era patente un carácter inflamatorio más o menos crónico y en alguna de las cuales se imbricaba una naturaleza autoinmune, mejor o peor demostrada. En ciertas enfermedades, la electroforesis del l.c.r. demostró ser de una excepcional importancia para el diagnóstico, habiendo sido ello una de las bases más importantes para el progreso en el conocimiento actual y futuro de las proteínas del l.c.r.

En particular, la demostración de un aumento selectivo de gammaglobulina en algunas afecciones neurológicas, tales como la esclerosis múltiple y la panencefalitis esclerosante subaguda, sin una correspondencia similar en las proteínas séricas de tales enfermos, fue un argumento importante, para quienes habían intuido la formación intratecal de la mayor parte de estas proteínas existentes en exceso en estos l.c.r. De este modo en la actualidad han quedado abiertos varios caminos de investigación fundamentales para el conocimiento de la patogenia de estas importantes afecciones neurológicas. El primero de ellos dirigido a confirmar la formación en el interior del sistema nervioso de la gammaglobulina cuantitativamente elevada; correlaciones plasma-l.c.r. de tales proteínas, investigación de las mismas en extractos cerebrales, perfusiones ventrículo-lumbares, etc., han sido los principales medios empleados con este fin. Otro tipo de trabajo ha consistido en intentar cualificar esta gammaglobulina, anormal en su cuantía; los métodos utilizados se han conducido a través del estudio de la movilidad electroforética, del comportamiento antigénico por inmunoelectroforesis o difusión radial y de las absorciones de inmunosueros específicos.

Creemos, en definitiva, que estos y otros programas de trabajo que irán surgiendo como lógica sucesión de cada uno de los hallazgos, contribuirán en un futuro no muy lejano al conocimiento y, por tanto, a la terapéutica de enfermedades neurológicas, que bien precisadas en sus características clínicas y patológicas se encuentran necesitadas de una secuencia patogénica convincente.



**LAS PROTEINAS DEL LIQUIDO  
CEFALORRAQUIDEO EN EL INDIVIDUO NORMAL**

A) Resulta de indudable dificultad la obtención de sujetos "controles", que se ajusten a la normalidad en un sentido estricto. Con el mismo problema se han enfrentado la mayoría de los autores al iniciar este tipo de trabajos. Son excepcionales aquellos que han dispuesto para sus experiencias de donantes voluntarios, ya que, por un lado, exigiría para los mismos retribuciones importantes en virtud de la indudable molestia que la punción lumbar supone, y, de otra parte, existe entre los profanos la idea de ser esta exploración extraordinariamente grave y dolorosa. Los sujetos que acuden a las consultas médicas por motivos extraneurológicos, no pueden ser utilizados con estos fines sin una justificación razonable, primero, por los más elementales criterios deontológicos y, en segundo lugar, por resultar siempre enfermos difíciles de controlar, de adquirir un concepto convincente de su normalidad neurológica y de saber exactamente la repercusión que su afección, aun fuera del terreno de la Neurología, pueda tener sobre las proteínas plasmáticas y, por ende, sobre el l.c.r.

De los numerosos investigadores que han realizado estudios panorámicos o parciales acerca de las proteínas del l.c.r. únicamente Kabat y cols. (1948) y Tourtellotte y cols. (1961), han dispuesto de sujetos voluntarios como "controles".

La mayoría de los autores utilizan como sujetos normales enfermos que presentan afecciones no orgánicas del sistema nervioso, y algunos emplean como material las extracciones de l.c.r. obtenidas en el curso de raquianestesia. A la vista de las dificultades mencionadas es curioso observar en la lectura de sus publicaciones cómo muchos autores evitan dar detalles sobre el grupo denominado "control".

En nuestro trabajo hemos empleado como sujetos "controles" en su mayor parte enfermos afectados de diferentes modalidades de neurosis y en los cuales los exámenes complementarios neurológicos de rutina (radiología simple y electroencefalograma) no mostraron ningún dato expresivo de organicidad; en menor número, enfermos que aquejaban cefalea o mareo psicógenos, y en los que los exámenes clínicos y complementarios citados, así como sus revisiones posteriores, no evidenciaron patología orgánica subyacente.

Un escaso número estaba constituido por enfermos epilépticos, controlados clínicamente, en los cuales las exploraciones radiológicas con contraste (neumoencefalografía o arteriografía cerebral) habían sido negativas; en estos enfermos nunca se utilizó el l.c.r. obtenido con ocasión de neumoencefalografía, ni en épocas próximas a alguna de sus exploraciones radiológicas. Finalmente, quedaron incluidos algunos enfermos que presentaban cuadros de lumbalgia en fase de remisión, y en los que no existían manifestaciones radicales irritativas ni deficitarias. No fueron utilizados nunca enfermos que habiendo consultado por problemas neurológicos de los anteriormente citados, estuvieron afectados de alguna enfermedad extraneurológica de la que pudiera sospecharse una repercusión general o sistémica, tales como sujetos diabéticos, enfermos de colagenopatías, cancerosos, pacientes nefrológicos, etcétera. Del mismo modo quedaron excluidos aquellos que presentaban problemas infecciosos en actividad, por aparentemente banales que resultasen.

Desde el punto de vista de laboratorio fueron condiciones para su aceptación la normalidad de los análisis de sangre y orina, un E.E.F. y proteínas totales de suero dentro de la normalidad, y un l.c.r. conteniendo menos de 30 mg. por 100 c.c. de proteínas totales, menos de cuatro células por mm. c., y una curva de oro coloidal con floculación nula o escasa e inespecífica.

Inicialmente contábamos con 132 casos admitidos como normales, a los que se les había practicado E.E.F. en líquido cefalorraquídeo, pero de ellos quedaron excluidos 15 por defectos técnicos propios de los comienzos de nuestro trabajo; otros 25 fueron rechazados por haber sido utilizado para la tinción otro colorante distinto del que hemos empleado definitivamente en nuestros estudios. Por ello, después de estas exclusiones, realizamos ocho casos normales más, con la intención de completar un centenar, cifra ésta que facilitaba nuestros posteriores cálculos estadísticos.

B) El primero y más grave de los problemas técnicos que plantea la manipulación de l.c.r. concierne a la necesidad de su concentración. A ello obliga la escasa proporción de proteínas existentes en el l.c.r. El término medio de la proteinorraquia espinal normal viene a oscilar entre 20 y 25 mg. por 100 c.c. y las proteínas totales del suero humano entre los 6 y 8 g. por 100 c.c. Es obvio que la concentración a que debe someterse el l.c.r. está en función de su proteinorraquia total, y que, por tanto, líquidos patológicos hiperproteicos requieren una concentración menos rigurosa para llevar a cabo un buen examen electroforético. El grado de concentración idóneo no está perfectamente definido, ni

existen criterios unánimes en los diversos autores. Clausen y otros, en 1965, propusieron unas normas a este respecto para la "standardización" de la técnica. En opinión de estos autores, el l.c.r. debe ser concentrado hasta quedar reducido a una centésima de su volumen inicial, y la muestra que se debe aplicar en electroforesis debe contener 0,1 mg. de proteínas, independientemente de las proteínas totales que el l.c.r. mostrase antes de su concentración. Podemos afirmar que estos criterios, en el momento actual, son del todo utópicos, por varias razones. En primer lugar, los aparatos de ultrafiltración con presión positiva dejan un producto final casi sólido esparcido por la superficie del filtro; difícilmente podría decirse el número de veces que se ha reducido el volumen inicial del l.c.r. Si la concentración se efectúa mediante diálisis en bolsa de colodión, incluso admitiendo que la presión negativa aplicada sea siempre idéntica, es imprevisible el grado de distensión que el vacío ejerce sobre la bolsa, y materialmente imposible conocer en un momento dado el volumen a que se ha reducido el l.c.r. Por todo ello, resulta impracticable la colocación de una muestra constante en su contenido proteico. Además cuando el l.c.r. es notablemente hiperproteico, la concentración a la centésima, aparte de innecesaria, es extraordinariamente laboriosa en sus últimas etapas, por su larga duración y formación de conglomerados proteicos.

Habitualmente, el l.c.r. se concentra aproximadamente igual de unos casos a otros, y es sencillo dar con un nivel de concentración óptimo cuando se posee una cierta experiencia; si la concentración es en bolsa de colodión el l.c.r. adquiere una coloración amarillenta similar a la del suero; si es por ultrafiltración con presión positiva, se coloca una cantidad inicial variable en virtud de la proteinorreaquia del líquido a examinar.

Nosotros intentamos al comienzo del trabajo, la introducción de unas modificaciones en nuestro material, con la finalidad de aplicar rigurosamente los criterios de "standardización" propuestos. Haremos mención de ello más adelante, pero no pasó de ser un sistema útil para obtener datos aproximados sin más.

Ha sido objeto de numerosas controversias el tema del mecanismo de concentración que es más correcto aplicar al l.c.r. En líneas generales, el sistema ideal sería aquel que permitiese la exclusión del mismo de la mayor parte de agua e iones, impidiendo por completo la pérdida de cualquier tipo de proteínas, y todo ello realizado en el menor tiempo posible.

El sistema más elemental es la evaporación, simple o acelerada por ventilación. Fue utilizado por Booij (1952) y por Goa y

Tveten (1963). Se produce una retención completa de iones, y una importante desnaturalización de las proteínas. Igualmente, existe una gran alteración de las proteínas con el empleo de la liofilización (Gries, 1963; De Risio, 1957; Burtin, 1959), la precipitación por acetona al frío (Bücher, 1952; Roboz, 1954), o la precipitación con acetato de cobre (Burtin, 1959).

La diálisis contra soluciones macromoleculares hipertónicas tiene como principal inconveniente, una duración muy prolongada. Se ha empleado el dextrano por Schneider y Wallenius (1951), Wallenius (1952), Rossi y Schneider (1953), Press (1956) y Goa y Tveten (1963) entre otros. En esta misma línea ha sido utilizado el P.V.P. por Steger (1953), Pert y Kutt (1958), Bronsky (1960), Spina-Franca (1960), Colover (1961) y Manuel y De Rougemont (1962). Nosotros mismos, al principio de nuestro trabajo, utilizamos en unas cuantas ocasiones este sistema, por vía de prueba, y lo abandonamos por la razón anteriormente expuesta y por ser deficitaria la calidad del concentrado. Finalmente, Ewerbeck (1950) y Brackenridge (1962), han empleado la goma arábiga, con resultados poco satisfactorios.

Actualmente, se admite con unanimidad que los mejores sistemas de concentración para el l.c.r. son la ultrafiltración bajo presión positiva de aire o de nitrógeno, y la diálisis con aplicación del vacío. El primero de ellos ha sido utilizado entre otros por Kabat (1942), Scheid y Scheid (1944), Gries (1953), Knapp (1955), Lowenthal (1958-1964), Goldstein (1960), Laterre (1965). El segundo, por Labhart (1951), Mies (1953), Bauer (1956), Booi (1956), Schmidt (1956), Denker (1960-1963), Clausen (1960-1963), Schapira y Park (1961), Blau (1963), Laterre (1965), etc. Ambos sistemas requieren muy pocas manipulaciones, son relativamente rápidos y, por tanto, evitan al máximo la desnaturalización proteica, sobre todo el segundo de ellos, ya que la ultrafiltración por presión positiva, como hemos dicho anteriormente, reduce el l.c.r. a una situación semisólida, propicia a la formación de aglomerados proteicos. Cuando se utiliza este sistema es preferible la aplicación de nitrógeno para evitar igualmente la desnaturalización de las proteínas, que tiene lugar más fácilmente al contacto con el aire. Burrows en 1965, Whitaker y Lemmi (1966), y sobre todo Kaplan y Johnstone (1966), han realizado trabajos en los cuales se considera como más satisfactorio el empleo de la diálisis bajo presión negativa que se efectúa a través de bolsas de colodión.

En cualquiera de los casos, la concentración debe realizarse a temperatura de 4°, para lo cual el aparato utilizado se coloca en

el interior de un baño de hielo. Este criterio puede ser aplicado con menos rigor al sistema de diálisis bajo vacío, por ser el sistema más rápido en conseguir una buena concentración.

Para realizar nuestro trabajo, por las razones anteriormente expuestas, hemos preferido la diálisis bajo vacío, a través de la pared de la bolsa de colodión. Con la finalidad de conocer, aunque de forma aproximada, la cantidad de l.c.r. existente en el interior de la bolsa en cada momento, introdujimos una modificación, consistente en un tubo graduado de la misma forma que la bolsa de colodión, perforado en su extremo inferior para permitir a su través ejercerse la acción del vacío. A este tubo la bolsa se adhiere virtualmente al aplicar la succión, y la concentración no se lentifica, ya que por capilaridad se establece una circulación constante entre las paredes de bolsa y tubo, se puede aplicar una gran presión negativa sin que se rompa la bolsa de colodión, y permite saber con bastante aproximación y en cada instante el volumen del l.c.r. contenido en la bolsa.

El ultrafiltrado recogido a través de la bolsa de la colodión, no nos ha mostrado nunca la existencia de proteínas precipitables con el ácido tricloroacético.

C) Previamente a la concentración, es conveniente liberar al l.c.r. de toda clase de impurezas que pueda contener. Ello se puede realizar bien sea centrifugando o, todavía mejor, mediante la utilización de filtros de porosidad adecuada, que permita el paso completo de todas las proteínas y retenga en su superficie las células y cualquier otra sustancia que haya podido llegar al l.c.r. durante las manipulaciones previas. Para este fin hemos comprobado que son idóneas las porosidades de 0,60 a 0,85 micras. De esta forma, el l.c.r. recién extraído es recogido en una jeringa, a la que se aplica un soporte metálico conteniendo un filtro "Millipore" de la porosidad mencionada; mediante una presión muy suave se hace pasar el l.c.r. al interior de la bolsa de colodión para ser sometido a su concentración. Se extrae de su soporte el filtro, cuyo material ya viene preparado para proceder al estudio celular mediante las tinciones adecuadas, técnica ésta que mencionaremos con más detenimiento en otro apartado. Con este sistema la pureza del producto concentrado queda garantizada, no siendo necesaria la centrifugación posterior y pudiendo, por tanto, recogerse la muestra final que mediante un aplicador se coloca sobre el sustrato en el que se efectúe la electroforesis.

D) Otra de las facetas de la técnica que más interés presenta es la que concierne a la elección del sustrato sobre el que se practique la electroforesis. Si únicamente se pretende la investigación, pensamos que debe elegirse aquél cuyo poder resolutivo sea su-

perior. Si se le intenta introducir en la práctica clínica, debe responder a una serie más de cualidades, como son la facilidad de manipulación, lectura, conservación, unido a la mayor rapidez en la obtención de resultados.

A partir de 1959, en que Grassman y Hanning describieron la técnica de separación electroforética sobre papel, la mayoría de los autores, bien en forma definitiva, bien en algún momento de su trabajo, han utilizado dicho sustrato, con excelentes resultados.

El poder resolutivo superior corresponde al gel de almidón, pero no permite la realización de determinaciones cuantitativas, por lo que su utilidad queda relegada al uso exclusivo de la investigación, habiendo proporcionado datos de gran interés en este sentido a diversos autores como Pert, Kutt y cols. (1960-1961) y Manuel, De Rougemont y cols. (1962).

La electroforesis en disco de gel de acrilamida (Cunningham, 1964) posee igualmente un alto poder resolutivo. Su reciente adquisición le mantiene todavía alejado de numerosos programas de trabajo.

Actualmente, la polémica queda centrada prácticamente en la utilización del gel de agar o del papel de acetato de celulosa. Ambos sustratos muestran un excelente poder resolutivo, obteniéndose una excelente información con la aplicación de mínimas cantidades de muestra.

La electroforesis en agar gel, especialmente según el método introducido por Wieme en 1959, ha sido utilizada por numerosos autores, entre ellos Lowenthal (1959-1964), Canal (1962), Clausen (1962), Laterre (1965), etc. Su manipulación, aun siendo sencilla, es algo más laboriosa que la del acetato de celulosa, el material más delicado, y su conservación más difícil. La muestra se aplica sobre una ranura central, siendo, por tanto, artefactada con frecuencia la lectura e interpretación de resultados en los territorios Alfa dos-Beta. Por el contrario, la larga migración de las gammaglobulinas y su alejamiento del punto de aplicación permite obtener una excelente separación y nitidez de estas interesantes fracciones.

Kaplan y Savory (1965), utilizan el acetato de celulosa por considerarlo de poder resolutivo superior al del agar gel. Con anterioridad fue usado por Brackenridge (1962) y Gavrilesco (citado por McMenemey, 1961). Tiene la ventaja de la fácil manipulación propia de la tira de papel, y no existe ningún problema para su lectura y conservación; su poder resolutivo, ya hemos dicho, es al menos similar al del agar, sobre todo en algunas variedades de superficie gelatinizada. Tiene como desventaja que la aplicación

de la muestra se realiza sobre el extremo catódico de la tira, con lo cual la migración de gammaglobulinas es breve, y en los casos de subfracciones de movilidad lenta o negativa, hay que tener en cuenta el pequeño artefacto ocasionado por el punto de aplicación. Este debe situarse siempre a la misma distancia del electrodo negativo, para poder valorar eficazmente la movilidad relativa de cada una de las fracciones.

Fundamentalmente, con vistas a la aplicación clínica, hemos utilizado para nuestro trabajo la tira de papel de acetado de celulosa gelatinizada ("Cellogel"). Hemos podido comprobar un poder resolutivo igual o discretamente superior al agar gel, que hemos utilizado en alguna faceta de éste y de otros trabajos.

E) El elegir un colorante u otro para la tinción de las proteínas separadas electroforéticamente, plantea el problema de la afinidad de los mismos por algunas de las fracciones proteicas. Lo ideal sería disponer de un colorante con idéntica afinidad para todas las proteínas, y de una batería de colorantes por otro lado, selectivos para teñir unos u otros grupos (lipoproteínas, glicoproteínas, etc.). Esto, desgraciadamente, sólo se ha conseguido a medias, y los colorantes utilizados como generales plantean el grave problema de su afinidad selectiva por la albúmina, con la consiguiente repercusión en la cifra porcentual de cada una de las restantes fracciones. En lo que concierne al azul de bromofenol, la relación de afinidad albúmina/globulinas se estima de 1,6 (Block y cols., 1958). Esta relación, aun cuando no está bien precisada, se considera inferior para el amido-negro, y aún mejor para el rojo Ponceau. Estos mismos criterios hemos obtenido de nuestra experiencia con estos tres colorantes en papel, el primero, y en acetato de celulosa y agar gel los otros dos. Hemos empleado definitivamente para este trabajo el amido-negro, ya que cuando introdujimos en nuestro laboratorio el rojo Ponceau llevábamos realizada buena parte de la casuística, y preferimos continuar con el anterior en favor de la homogeneidad de la técnica.

F) Los métodos de lectura quedan resumidos en dos:

1. Fotocolorimetría de las fracciones separadas electroforéticamente y eluidas en forma adecuada según el sustrato y colorante empleados. Tiene como inconvenientes principales la importante pérdida de tiempo que supone, y la destrucción de la tira de electroforesis. No obstante el método es muy exacto, da lecturas muy correctas, y nosotros lo utilizamos en una serie de casos en los que pretendimos establecer la relación entre los valores obtenidos por este método y los hallados por densitometría por reflexión, sistema habitual en nuestro trabajo.



2. Densitometría por reflexión. Según la intensidad de la densidad óptica, el sistema inscriptor va trazando una curva, cada una de cuyas superficies es valorada automáticamente por un integrador. El registro gráfico, en algunos de estos aparatos, puede realizarse al mismo tamaño de la tira de electroforesis o ampliarse varias veces. Los inconvenientes de este sistema surgen siempre por defectos técnicos en la realización de la electroforesis. En unas ocasiones porque la concentración alcanzada es débil, y se coloca una muestra muy cuantiosa, con objeto de que se puedan detectar aquellas proteínas que se encuentran en escasa proporción; en estos casos la proporción de la albúmina es muy grande y la lectura ofrece dificultades por este motivo. Otras veces, la concentración alcanzada es buena, pero la muestra es igualmente excesiva; la dificultad entonces es doble, y hay ocasiones en que la lectura es imposible, por producir una "meseta" la curva de integración de la albúmina, a pesar de poner en práctica sistemas de corrección de los que a continuación hablaremos.

Las ventajas indudables de la densitometría por reflexión se basan en su rapidez, en la conservación de la tira, en la posibilidad de repetir el trazado o determinados aspectos del mismo, y en la excelente reproducción gráfica no sólo de las bandas netas, sino de las estelas proteicas dejadas por las proteínas en su recorrido, permitiendo sacar consecuencias de las mismas.

Los métodos de corrección a que antes aludíamos están indicados unos para evitar la amputación del pico de la curva correspondiente a la albúmina, cuando ésta se encuentra en proporciones excesivas; otros, tienen como finalidad proporcionar linealidad a los resultados cuando las muestras poseen una alta concentración y las densidades ópticas son muy elevadas. Para conseguir lo primero, existen las indicaciones de la lectura dadas por Wieme (1963), para conseguir unos valores aproximados a los reales. Se procede a la lectura, y en un primer barrido la densidad óptica de la albúmina supera la capacidad de registro del aparato; a continuación se desciende la línea de base y se efectúa un segundo barrido e incluso un tercero hasta completar el pico amputado de la albúmina.

También puede aplicarse un sistema de corrección, realizando la lectura mixta, por elución y por densitometría, de una serie de muestras de albúmina a diluciones progresivas, procediendo a continuación a la fabricación de una tabla de correcciones, para aquellas muestras que lo exijan.

Con el fin de alcanzar la mencionada linealidad algunos aparatos introducen cuñas especiales, para que a partir de determi-

nadas densidades ópticas los valores sigan una progresión lineal y no tenga lugar una caída parabólica con el consiguiente error.

La comparación entre elución y densitometría permite observar algunas pequeñas diferencias. Los valores obtenidos para la albúmina son siempre discretamente más altos, así como los de gammaglobulina, cuando se utilizan sistemas de elución; mientras que los valores especialmente de prealbúmina y alfas son más bajos que empleando la densitometría.

#### TECNICA EMPLEADA PARA LA ELECTROFORESIS DEL L.C.R. EN EL PRESENTE TRABAJO

*Sustrato:* tiras de acetato de celulosa gelatinizado, de  $2,5 \times 17$  cm. Para su conservación se mantienen en un baño de metanol al 40-50 %. Quince minutos antes de ser utilizadas, se introducen para su lavado en un buffer idéntico al que se emplea en la electroforesis.

*Muestra:* el l.c.r. obtenido del enfermo puede ser sometido inmediatamente a las manipulaciones necesarias, que es lo idóneo, o conservado en nevera, a ser posible a  $-20^\circ$ , temperatura a la que mantiene por tiempo indefinido todas sus características, en lo que a proteínas concierne. La cantidad de l.c.r. que nosotros empleamos es de 8 c.c. cuando su proteinorraquia está en los límites normales. Por el contrario, ante proteinorraquias muy elevadas, o por el contrario descendidas (l.c.r. ventricular), las cantidades varían en función de la cifra de proteínas totales.

Previamente a su concentración, el l.c.r. es filtrado a través de un filtro "Millipore" de poros con un diámetro de 0,60 a 0,85 micras. El filtrado es sometido a concentración.

*Concentración:* se efectúa en bolsas de colodión, protegidas y en cierto modo mensuradas por un tubo graduado, al que se adaptan virtualmente. Al soporte de cristal, en donde se encuentran situadas las bolsas, se aplica mediante el vacío una presión negativa.

La concentración se realiza a  $4^\circ$ , y se suspende cuando el l.c.r. alcanza una coloración amarillenta similar a la de un suero; habitualmente en un l.c.r. normal esto sucede cuando ha quedado reducido a una o dos décimas de c.c. Este producto ya concentrado, es recogido, con una pipeta o un capilar, y se coloca la muestra en un aplicador, mediante el cual se deposita en la tira de electroforesis, a 45 mm. del borde catódico de la tira.

*Buffer:* pH 8,6 - Fuerza iónica 0,075.

Composición:

Barbital sódico ... ..	15,40 g.
Barbital ácido ... ..	2,76 "
Agua destilada, hasta un litro.	

Su pH es controlado cada dos electroforesis.

*Cubeta de electroforesis:* Horizontal "Shandon" con puente de 8 cm. Se invierten los electrodos después de cada electroforesis. Esta se efectúa a voltaje constante de 150 V., y durante un tiempo de hora y tres cuartos (Voltímetro "Shandon" modelo "VO-KAN" 2541).

*Tinción:* un minuto en amido-negro.

Composición:

Amido-negro... ..	0,5 g.
Metanol... ..	50 c.c.
Agua destilada ... ..	40 c.c.
Acético glacial... ..	10 c.c.

*Solución decolorante:* debe mantenerse en ella la tira hasta que se observe una perfecta decoloración con nitidez de las bandas.

Composición:

Metanol ... ..	500 c.c.
Agua destilada ... ..	450 c.c.
Acético glacial ... ..	50 c.c.

*Solución transparentizante:* se mantiene en ella durante unos veinte minutos, a tiempo superior la transparentización no mejora ya, y por el contrario las tiras pierden gran parte de su consistencia.

Composición:

Metanol ... ..	85 c.c.
Acético glacial ... ..	15 c.c.

*Secado:* Las tiras decoloradas y pasadas por la solución transparentizante, se extienden sobre una plancha de vidrio pulido, teniendo la precaución de evitar que se incluyan burbujas de aire. Se introducen en un horno a temperatura de 60 a 80°, tanto tiempo como sea necesario para alcanzar una completa transparencia. Una vez conseguida, no debe despegarse la tira del vidrio hasta que no

ha quedado totalmente fría, ya que si no se hace de esta forma, la tira se riza, o se despega con dificultad, con riesgo de romperla.

*Lectura:* densitómetro "Chromoscan-Joyce". Nosotros hemos efectuado siempre la lectura por reflexión. Este densitómetro integra automáticamente la curva, y permite el registro al tamaño de la tira y ampliada tres o nueve veces. A continuación los valores integrados son pasados a tantos por ciento.

#### TECNICA DE INMUNOELECTROFORESIS UTILIZADA EN EL PRESENTE TRABAJO

La inmunolectroforesis la realizamos sobre agar, utilizando la variedad "Special Agar Noble" Difco 0142-02.

Para la preparacin del agar seguimos los siguientes pasos:

- 1) 2,5 g. de Agar Noble son colocados en un Erlenmeyer con 100 c.c. de agua destilada.
- 2) La mezcla se introduce en un recipiente con agua en ebullición hasta conseguir una disolución completa.
- 3) Se añaden 100 c.c. de buffer de veronal y todo ello se mantiene durante unos minutos al baño María hasta quedar homogenizado.
- 4) A continuación puede procederse a extender el producto sobre los portas para la obtención de las placas sobre las que tendrá lugar el estudio.

El buffer empleado, tanto para la preparación del agar como para la cubeta de electroforesis, tiene los siguientes caracteres:

- 1) Fuerza iónica: 0,06.  
pH: 8,6.
- 2) Composición:

Veronal sódico ... ..	10 g.
Veronal ácido ... ..	2 g.
Azida sódica al 5 % ... ..	10 c.c.
Agua destilada, hasta un litro.	

Una vez dispuesta la placa de agar, se deja enfriar durante 30 minutos, pasados los cuales se procede a practicar los pocillos y a situar en ellos las soluciones proteicas a examinar, realizando a continuación una electroforesis a corriente constante de 15 mAp por placa, y de una hora de duración.

Terminada la electroforesis se hace la ranura central en donde se coloca el antisuero adecuado, conservándose la placa a temperatura ambiente, en reposo, y medio húmedo, hasta la formación de las bandas de precipitación.

Las placas, con las líneas de precipitación ya formadas, se sumergen en suero salino fisiológico durante 48 horas, cambiando el baño a las 24 primeras horas. Después se introducen en agua destilada durante 24 horas, y más tarde se secan a temperatura ambiente durante 24-48 horas, protegiendo el agar con una cubierta de papel que eviten su agrietamiento, o también pueden secarse en una estufa a 60°-80° durante 10 a 15 minutos.

La tinción tiene lugar durante 45 minutos con azul de bromofenol.

La composición del mismo es la siguiente:

Azul de bromofenol ... ..	0,1 g.
Sulfato de zinc ... ..	50 g.
Acido acético glacial ... ..	50 c.c.
Agua destilada, hasta un litro.	

El lavado se efectúa con acético al 2 % durante tres horas. A continuación la placa se seca y se introduce durante unos minutos en vapor de amoníaco puro.

Cuando en lugar de inmunoelectroforesis se practica la DOBLE DIFUSION en placas de OUCHTERLONY, la preparación del agar es diferente. La composición es:

Agar noble ... ..	2 g.
Cloruro sódico ... ..	1,54 g.
Agua destilada ... ..	200 c.c.

Se coloca al baño María y se añaden 2 c.c. de azida sódica al 5 %.

A continuación se coloca en la placa de 6 × 6 cm. (en nuestro trabajo), y antes de realizar el estudio se mantiene en reposo durante 24 horas.

#### COMPARACION ENTRE LOS PERFILES ELECTROFORETICOS DE L.C.R. Y SUERO

Desde los primeros trabajos realizados en la literatura al respecto, ha sido una observación constante la similitud existente entre los perfiles electroforéticos de l.c.r. y suero. En el primero de

los flúidos y en el individuo normal, se obtiene la separación de siete fracciones electroforéticas perfectamente definidas. Estas son las siguientes: Prealbúmina, Albúmina, Alfa 1, Alfa 2, Beta 1, Beta 2-Tau, Gamma.

Las principales diferencias electroforéticas entre ambos espectros son:

1) Mientras en el suero apenas es apreciable la existencia de Prealbúmina, en el l.c.r. ésta se encuentra presente en el 100 % de los individuos normales en cantidad considerable y con una movilidad ligeramente más rápida que su homóloga sérica.

2) La movilidad de la Albúmina es muy ligeramente superior en el espectro del l.c.r.

3) Es muy ostensible la diferencia cuantitativa entre la escasa Alfa 2 del l.c.r. y la gruesa banda homóloga en el suero.

4) En situación Beta 2, aparece en el l.c.r. una banda denominada Tau, que en la mayoría de los casos presenta una movilidad ligeramente más lenta que la Beta 2 sérica. En nuestra experiencia el 96 % de los l.c.r. normales, presentan esta banda Tau. En un 28 % aparece la Beta 2 con movilidad idéntica a la del suero.

5) La banda correspondiente a Gammaglobulina es muy débil en el l.c.r. en comparación con el suero.

Habitualmente el l.c.r. normal, obtenido por vía lumbar, no muestra la presencia de otras fracciones electroforéticas distintas de las mencionadas. No obstante, pueden encontrarse otras bandas, como son las siguientes.

1) Existencia de otra banda situada entre la Prealbúmina y la Albúmina. La hemos observado en dos casos.

2) Aceleración de la banda de Alfa 1, hasta situarse estableciendo contacto con la Albúmina. Existencia de una bipartición del territorio habitualmente ocupado por una difusa banda Alfa 2. Lo mismo lo hemos observado en ocho casos y lo segundo en uno, y sin coincidir ambas.

3) Existencia de alguna banda situada catódicamente respecto al punto de aplicación de la muestra. A estas bandas que nosotros hemos observado en dos casos normales, se les denomina genéricamente "post-gamma".

El l.c.r. obtenido por *vía ventricular* presenta algunas diferencias respecto al extraído por punción lumbar.

1) Se observa un aumento de la fracción correspondiente a la Prealbúmina.

- 2) La banda de Albúmina es ligeramente más débil.
- 3) Existe un aumento de la banda Tau.
- 4) La banda de Gammaglobulina es más tenue que en el l.c.r. espinal.
- 5) La frecuencia de aparición de bandas de movilidad negativa es superior.

Por otra parte el l.c.r. ventricular presenta siempre una proteinorraquia inferior a la del procedente de punción lumbar.

El *l.c.r. cisternal* presenta características análogas al l.c.r. espinal.

# ESTUDIOS PERSONALES SOBRE LA ELECTROFORESIS DEL L.C.R. EN LA POBLACION NORMAL

## VALORES PORCENTUALES OBTENIDOS EN LOS CASOS CONTROL

CASOS	PREALB/	ALB/	ALFA 1	ALFA 2	BETA 1	TAU	GAMMA
1	5,01	61,56	3,52	6,27	10,58	4,01	9,01
2	4,91	62,10	2,45	7,71	9,12	4,91	8,77
3	4,54	66,57	3,47	4,81	4,55	2,67	9,35
4	7,14	60,52	2,63	6,76	10,15	3,38	9,37
5	7,36	58,34	2,33	4,84	12,38	3,94	10,77
6	4,10	65,67	5,79	3,25	10,86	4,02	6,65
7	6,87	52,50	6,56	7,18	10,31	5,62	10,93
8	5,46	62,44	2,37	4,78	10,20	3,19	11,53
9	5,55	61,15	3,64	6,06	10,27	3,97	9,35
10	4,93	60,71	4,26	7,77	9,07	3,55	9,67
11	5,24	61,33	4,14	6,28	9,87	4,20	8,91
12	6,01	56,62	4,20	7,35	11,93	3,85	10,02
13	3,99	64,28	2,59	5,39	9,46	4,67	9,61
14	6,31	59,41	5,26	8,26	10,68	3,21	6,84
15	5,60	62,78	2,41	4,05	11,02	2,96	11,16
16	4,93	65,39	2,78	3,97	9,36	4,28	9,28
17	5,15	59,98	3,46	6,89	10,75	4,61	9,31
18	6,11	54,16	7,04	8,74	12,10	3,07	8,76
19	8,04	60,07	2,52	5,01	10,45	3,89	10,01
20	6,12	61,18	3,21	6,22	8,60	5,36	9,27
21	4,82	62,24	2,78	6,15	10,07	4,31	9,62
22	5,26	61,86	1,75	7,40	9,63	3,88	10,21
23	6,04	57,48	4,00	7,63	12,34	3,62	8,74
24	5,56	61,19	4,23	4,83	9,85	4,37	9,96
25	5,39	60,97	3,07	6,77	11,22	3,28	9,28
26	3,99	62,39	4,15	4,91	10,69	4,51	9,35
27	5,54	58,75	2,98	5,61	12,67	3,18	11,26
28	6,00	61,26	3,86	4,59	11,29	2,94	10,04
29	3,87	62,63	4,20	6,49	8,67	5,39	8,74
30	4,22	61,72	5,39	6,96	9,44	4,67	7,59
31	5,55	56,66	5,04	7,01	10,49	5,02	10,21



CASOS	PREALB/	ALB/	ALFA 1	ALFA 2	BETA 1	TAU	GAMMA
32	6,31	60,27	4,37	6,40	8,29	4,99	9,36
33	4,88	61,04	3,84	7,40	10,67	3,16	8,99
34	5,21	66,23	1,66	2,11	11,44	3,72	9,62
35	5,49	59,88	3,60	4,82	10,93	5,24	10,03
36	6,12	60,35	4,18	4,21	12,65	3,56	8,92
37	5,36	61,27	3,74	5,85	9,98	4,39	9,39
38	5,60	55,89	5,23	8,81	11,68	3,27	9,48
39	4,96	60,08	4,52	4,91	12,33	2,98	10,21
40	5,72	61,31	3,94	4,07	10,61	4,67	9,67
41	4,86	61,13	4,21	6,64	10,15	3,88	9,12
42	5,31	60,86	3,45	5,62	10,33	3,75	10,67
43	4,98	61,19	4,73	5,43	9,86	4,26	9,54
44	6,15	59,92	3,87	6,30	9,74	5,01	8,99
45	3,98	62,74	2,91	5,53	9,12	4,67	11,02
46	5,53	61,09	4,18	4,87	9,28	4,73	10,31
47	5,28	59,93	4,02	6,06	11,33	3,86	9,51
48	5,69	60,27	3,82	5,95	10,72	4,05	9,48
49	4,87	61,90	4,24	5,01	9,84	5,02	9,10
50	5,16	61,33	2,98	5,45	9,35	4,68	11,04
51	5,30	59,48	3,95	5,62	12,14	3,16	10,33
52	4,86	62,03	4,02	4,78	9,15	4,74	10,41
53	6,12	58,77	4,44	7,92	9,62	3,86	9,26
54	5,67	60,59	3,57	6,63	8,94	5,27	9,32
55	4,99	61,18	4,18	6,87	10,21	4,75	7,80
56	5,18	60,37	3,21	5,20	9,77	5,15	11,10
57	5,42	60,94	4,30	6,96	9,33	4,82	8,21
58	5,27	61,26	3,79	6,80	10,14	3,25	9,47
59	6,08	58,15	4,88	7,13	12,02	2,94	8,79
60	4,74	61,62	3,11	5,44	10,28	4,28	10,52
61	4,61	59,98	3,88	5,70	11,29	3,61	10,94
62	5,22	60,34	4,55	7,35	10,00	4,13	8,39
63	4,89	62,03	4,01	6,06	9,91	3,86	9,22
64	7,01	56,78	3,12	5,74	12,25	5,01	10,07
65	5,38	61,19	3,90	5,71	9,86	4,96	8,99
66	6,50	60,32	2,89	7,19	8,39	5,21	9,48

CASOS	PREALB/	ALB/	ALFA 1	ALFA 2	BETA 1	TAU	GAMMA
67	5,23	60,80	3,13	9,62	10,41	3,62	7,16
68	5,47	59,99	2,94	6,11	9,98	4,39	11,10
69	4,33	63,15	3,99	6,08	8,84	4,25	9,34
70	3,89	62,36	4,21	6,40	11,23	3,61	8,28
71	5,07	60,81	3,10	6,37	10,08	4,92	9,64
72	5,54	61,23	4,09	5,68	9,54	5,15	8,75
73	4,99	59,44	2,80	6,95	12,33	3,21	10,26
74	5,61	60,38	3,53	7,09	9,95	4,14	9,27
75	4,78	62,04	4,17	5,21	8,80	3,97	11,01
76	6,15	58,23	3,44	7,99	11,21	2,86	10,10
77	7,42	59,07	2,91	5,56	10,39	5,00	9,63
78	5,55	61,25	3,87	6,44	10,25	3,66	8,98
79	4,86	60,77	4,00	5,15	9,87	5,11	10,22
80	5,30	59,92	3,26	7,02	10,32	4,58	9,58
81	4,37	62,32	3,82	5,31	10,28	3,96	9,92
82	5,21	61,16	2,89	5,84	11,04	4,15	8,69
83	6,09	58,94	3,91	6,80	9,33	3,87	11,05
84	5,31	59,28	4,03	7,06	9,68	4,41	10,21
85	5,56	61,36	3,68	7,04	8,91	4,29	9,14
86	4,88	62,01	2,13	9,36	11,05	3,24	7,31
87	5,29	60,87	4,02	5,38	12,64	2,91	8,88
88	4,34	61,15	3,88	7,12	9,48	3,77	10,24
89	5,60	59,99	3,64	7,80	10,23	3,26	9,15
90	5,81	60,18	5,83	7,31	9,85	4,03	6,98
91	6,15	60,24	4,21	6,05	8,84	4,69	9,79
92	7,22	55,31	6,32	6,19	11,26	3,22	10,47
93	4,38	60,29	3,90	7,59	10,46	4,45	8,91
94	5,09	61,46	4,33	5,81	11,02	2,99	9,27
95	5,48	60,85	4,07	5,77	9,38	3,86	10,56
96	5,55	61,17	2,98	5,46	9,52	4,21	11,10
97	4,92	60,67	5,01	6,76	10,12	3,87	8,63
98	3,16	59,92	6,21	6,69	9,07	4,10	10,84
99	5,52	60,38	4,22	4,33	10,58	3,94	11,02
100	5,18	61,62	3,85	5,34	12,03	2,63	9,33

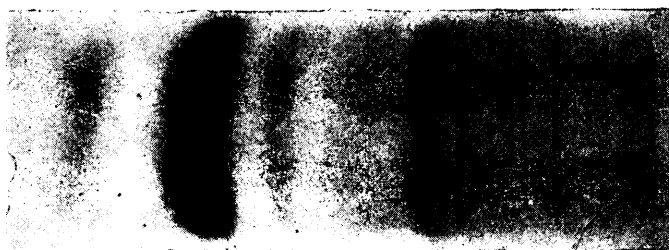


FIG. 1.—E.E.F. de l.c.r. normal. Caso número 81.

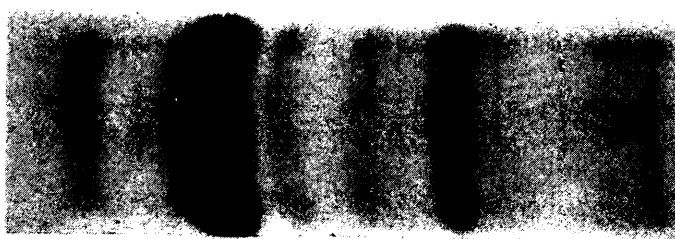


FIG. 2.—E.E.F. de l.c.r. normal. Caso número 96.

OBTENCION DEL VALOR MEDIO NORMAL DE LA  
FRACCION PREALBUMINA

Clase	Valor repre- sentativo $x_i$	Frecuencia $f_i$	$x_i f_i$	$x_i^2 f_i$
2,751-3,250	3	1	3	9
3,251-3,750	3,5	0	0	0
3,751-4,250	4	7	28	112
4,251-4,750	4,5	7	31,5	141,75
4,751-5,250	5	29	145	725
5,251-5,750	5,5	33	18,5	998,25
5,751-6,250	6	13	78	468
6,251-6,750	6,5	3	19,5	126,75
6,751-7,250	7	4	28	196
7,251-7,750	7,5	2	15	112,50
7,751-8,250	8	1	8	64
$S$		100	537,5	2.953,25

$$m = \bar{x} = \frac{1}{n} S f_i x_i = \frac{1}{100} \cdot 537,5 = 5,375$$

$$a_2 = \frac{1}{n} \cdot S f_i x_i^2 = \frac{1}{100} \cdot 2.953,25 = 29,5325$$

$$s = \sqrt{a_2 - m^2} = 0,801$$

$$\text{Error "standard" de la media} = t \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} = 1,993 \cdot \frac{0,801}{\sqrt{100}} \approx 0,16$$

Valor normal de prealbúmina en la población estudiada =  
=  $5,375 \pm 0,1602$  (con  $p < 0,05$ )

Límites de normalidad =  $m \pm 2 s = 5,375 \pm 1,602$

# OBTENCION DEL VALOR NORMAL DE LA FRACCION ALBUMINA

Clase	Valor repre- sentativo $x_i$	Frecuencia $f_i$	$x_i f_i$	$x_i^2 f_i$
52,251-53,750	53	1	53	2.809
53,751-55,250	54,50	1	54,50	2.970,25
55,251-56,750	56	4	224	12.544
56,751-58,250	57,50	4	230	13.225
58,251-59,750	59	9	531	31.329
59,751-61,250	60,50	48	2.904	175.692
61,251-62,750	62	26	1.612	99.944
62,751-64,250	63,50	2	127	8.064,50
64,251-65,750	65	3	195	12.675
65,751-67,250	66,50	2	133	8.844,50
S		100	6.063,50	368.097,25

$$m = \bar{x} = \frac{1}{n} \sum x_i f_i = \frac{1}{100} \cdot 6.063,50 = 60,635$$

$$a_2 = \frac{1}{n} \cdot \sum x_i^2 f_i = \frac{1}{100} \cdot 368.097,25 = 3.680,9725$$

$$s = \sqrt{a_2 - m^2} = 2,09$$

$$\text{Error "standard" de la media} = t \cdot \frac{2,09}{\sqrt{100}} \simeq 0,418$$

$$\begin{aligned} \text{Valor normal de la albúmina en la población estudiada} &= \\ &= 60,635 \pm 0,418 \quad (\text{con } p < 0,05) \end{aligned}$$

$$\text{Límites de normalidad} = m \pm 2s = 60,635 \pm 4,180$$

# OBTENCION DEL VALOR NORMAL DE LA FRACCION ALFA 1

Clase	Valor representativo $x_i$	Frecuencia $f_i$	$x_i f_i$	$x_i^2 f_i$
1,551-2,050	1,8	2	3,6	6,48
2,051-2,550	2,3	6	13,8	31,74
2,551-3,050	2,8	13	36,4	101,92
3,051-3,550	3,3	14	46,4	152,46
3,551-4,050	3,8	29	110,2	418,76
4,051-4,550	4,3	23	98,9	425,27
4,551-5,050	4,8	4	19,2	92,16
5,051-5,550	5,3	3	15,9	84,27
5,551-6,050	5,8	2	11,6	67,28
6,051-6,550	6,3	2	12,6	79,38
6,551-7,050	6,8	2	13,6	92,48
$S$		100	382,0	1.552,20

$$m = \bar{x} = \frac{1}{n} \sum x_i f_i = \frac{1}{100} \cdot 382 = 3,82$$

$$a_2 = \frac{1}{n} \cdot \sum x_i^2 f_i = \frac{1}{100} \cdot 1.552,20 = 15,522$$

$$s = \sqrt{a_2 - m^2} = 0,964$$

$$\text{Error "standard" de la media} = t \cdot \frac{0,964}{\sqrt{100}} \simeq 0,1928$$

$$\text{Valor normal de alfa 1 en la población estudiada} = 3,820 \pm 0,192 \text{ (con } p < 0,05)$$

$$\text{Límites de normalidad} = m \pm 2 s = 3,820 \pm 1,928$$

# OBTECION DEL VALOR NORMAL DE LA FRACCION ALFA 2

Clase	Valor repre- sentativo $x_i$	Frecuencia $f_i$	$x_i f_i$	$x_i^2 f_i$
2,051- 2,800	2,425	1	2,425	5,880625
2,801- 3,550	3,175	1	3,175	10,080625
3,551- 4,300	3,925	4	15,700	61,622500
4,301- 5,050	4,675	13	60,775	284,123125
5,051- 5,800	5,425	21	113,925	618,043125
5,801- 6,550	6,175	20	123,500	762,612500
6,551- 7,300	6,925	23	159,275	1.102,979375
7,301- 8,050	7,675	12	92,100	706,867500
8,051- 8,800	8,425	2	16,850	141,961250
8,801- 9,550	9,175	2	18,350	168,361250
9,551-10,300	9,925	1	9,925	98,505625
<i>S</i>		100	616,000	3.961,0375

$$m = \bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum x_i f_i = \frac{1}{100} \cdot 616 = 6,16$$

$$a_2 = \frac{1}{n} \cdot \sum x_i^2 f_i = \frac{1}{100} \cdot 3.961,0375 = 39,61$$

$$s = \sqrt{a_2 - m^2} = 1,29$$

$$\text{Error "standard" de la media} = t \cdot \frac{1,29}{\sqrt{100}} \simeq 0,258$$

$$\text{Valor normal de alfa 2 en la poblaci3n estudiada} = \\ = 6,160 \pm 0,258 \text{ (con } p < 0,05)$$

$$\text{L3mites de normalidad} = m \pm 2s = 6,160 \pm 2,580$$

# OBTENCION DEL VALOR MEDIO NORMAL DE LA FRACCION BETA 1

Clase	Valor representativo $x_i$	Frecuencia $f_i$	$x_i f_i$	$x_i^2 f_i$
8,251- 8,750	8,5	5	42,5	361,25
8,751- 9,250	9	10	90,0	810,00
9,251- 9,750	9,5	15	142,5	1.353,75
9,751-10,250	10	23	230,0	2.300,00
10,251-10,750	10,5	19	199,5	2.094,75
10,751-11,250	11	9	99,0	1.089,00
11,251-11,750	11,5	6	69,0	793,50
11,751-12,250	12	6	72,0	864,00
12,251-12,750	12,5	7	87,5	1.093,75
<b>S</b>		<b>100</b>	<b>1.032,0</b>	<b>10.760,00</b>

$$m = \bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum x_i f_i = \frac{1}{100} \cdot 1.032 = 10,32$$

$$a_2 = \frac{1}{n} \cdot \sum x_i^2 f_i = \frac{1}{100} \cdot 10.760 = 107,60$$

$$s = \sqrt{a_2 - m^2} = 1,04$$

$$\text{Error "standard" de la media} = t \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \simeq 0,208$$

$$\begin{aligned} \text{Valor normal de beta 1 en la población estudiada} = \\ = 10,320 \pm 0,208 \text{ (con } p < 0,05) \end{aligned}$$

$$\text{Límites de normalidad} = m \pm 2 s = 10,320 \pm 2,080$$



# OBTENCION DEL VALOR MEDIO NORMAL DE LA FRACCION TAU

Clase	Valor representativo $x_i$	Frecuencia $f_i$	$x_i f_i$	$x_i^2 f_i$
2,501-3,000	2,75	9	24,75	68,0625
3,001-3,500	3,25	14	45,50	147,8750
3,501-4,000	3,75	24	90,00	337,5000
4,001-4,500	4,25	21	89,25	379,3125
4,501-5,000	4,75	18	86,50	406,1250
5,001-5,500	5,25	13	68,25	358,3125
5,501-6,000	5,75	1	5,75	33,0625
S		100	409,30	1.730,2500

$$m = \bar{x} = \frac{1}{n} \sum x_i f_i = \frac{1}{100} \cdot 409 = 4,09$$

$$a_2 = \frac{1}{n} \cdot \sum x_i^2 f_i = \frac{1}{100} \cdot 1.730,25 = 17,3025$$

$$s = \sqrt{a_2 - m^2} = 0,757$$

$$\text{Error "standard" de la media} = t \cdot \frac{0,757}{\sqrt{100}} \simeq 0,151$$

$$\begin{aligned} \text{Valor normal de tau en la población estudiada} = \\ = 4,090 \pm 0,151 \quad (\text{con } p < 0,05) \end{aligned}$$

$$\text{Límites de normalidad} = m \pm 2 s = 4,090 \pm 1,510$$

# OBTENCION DEL VALOR MEDIO NORMAL DE LA FRACCION GAMMA

Clase	Valor repre- sentativo $x_i$	Frecuencia $f_i$	$x_i f_i$	$x_i^2 f_i$
6,501- 7,000	6,75	3	20,75	140,0625
7,001- 7,500	7,25	2	14,50	105,1250
7,501- 8,000	7,75	2	15,50	120,1250
8,001- 8,500	8,25	3	24,75	204,1875
8,501- 9,000	8,75	16	140,00	1.225,0000
9,001- 9,500	9,25	26	240,50	2.224,6250
9,501-10,000	9,75	13	126,75	1.235,8125
10,001-10,500	10,25	17	174,25	1.986,0625
10,501-11,000	10,75	7	75,25	808,9375
11,001-11,500	11,25	10	112,50	1.265,6250
11,501-12,000	11,75	1	11,75	138,0625
S		100	956,50	9.253,6250

$$m = \bar{x} = \frac{1}{n} \sum x_i f_i = \frac{1}{100} \cdot 956,50 = 9,565$$

$$a_2 = \frac{1}{n} \cdot \sum x_i^2 f_i = \frac{1}{100} \cdot 9.253,625 = 92,53625$$

$$s = \sqrt{a_2 - m^2} = 1,023$$

$$\text{Error "standard" de la media} = t \cdot \frac{1,023}{\sqrt{100}} \simeq 0,2046$$

$$\begin{aligned} \text{Valor normal de gamma en la poblaci3n estudiada} &= \\ &= 9,565 \pm 0,204 \text{ (con } p < 0,05) \end{aligned}$$

$$\text{L3mites de normalidad} = m \pm 2 s = 9,565 \pm 2,046$$

Los valores relativos obtenidos en la electroforesis de los casos normales estudiados, así como el análisis estadístico de cada una de las fracciones electroforéticas vienen expresados en las páginas precedentes, siendo en nuestro trabajo los valores normales, con probabilidad del 95 por 100, los siguientes:

Prealbúmina ... ..	5,375 ± 1,602 %
Albúmina ... ..	60,635 ± 4,180 %
Alfa 1 ... ..	3,820 ± 1,928 %
Alfa 2 ... ..	6,180 ± 2,580 %
Beta 1 ... ..	10,320 ± 2,080 %
Beta 2 - Tau ... ..	4,090 ± 1,510 %
Gamma ... ..	9,565 ± 2,046 %

Estos valores corresponden a l.c.r. obtenido por vía lumbar, en sujetos de edades comprendidas entre diez y sesenta años, y aceptados como "controles" de acuerdo con los criterios y salvedades hechas con anterioridad.

Nuestros resultados son prácticamente superponibles a los obtenidos por Kaplan (1967), utilizando la misma técnica, en los aspectos fundamentales. Sus cifras relativas fueron las siguientes, haciendo la salvedad de que dicho autor engloba ambas fracciones beta en un mismo valor:

Prealbúmina ... ..	4,9 ± 1,2 %
Albúmina ... ..	61,5 ± 5,3 %
Alfa 1 ... ..	4,5 ± 1,4 %
Alfa 2 ... ..	6,7 ± 1,8 %
Beta ... ..	13,7 ± 1,8 %
Gamma ... ..	8,8 ± 2,6 %

A primera vista, llama la atención en nuestros valores la considerable dispersión que ofrecen las alfa en relación con la del resto de las fracciones. Efectivamente, la desviación respecto a la media aritmética es aproximadamente del 30 por 100 en alfa 2 y del 50 por 100 en alfa 1. Esto, que desconocemos por qué no sucede en los valores medios dados por Kaplan, es lo habitual en las cifras medias de diversos autores, que han utilizado otras técnicas (Hill y cols., 1968; Weise, 1960; Bronsky y cols., 1962; Goa y Tevten, 1963; Lowenthal, 1964; Laterre, 1965). En mucha mayor proporción se observa este fenómeno en el trabajo de Brackenridge (1962), realizado sobre acetato de celulosa, pero que alcanza a todas las fracciones y que es achacable, sin lugar a dudas al empleo de un pobre sistema de concentración del l.c.r. (diálisis contra goma arábiga). Este hecho de la importante dispersión de

los valores medios de las alfa, responde, por un lado, a la escasa delimitación que ofrece siempre la banda de alfa 2, sobre todo en su porción más próxima a las betas, con la consiguiente dificultad en su lectura. Como después veremos, la imagen inmunolectroforética muestra cómo en esa zona, a pesar de la idéntica movilidad electroforética, es donde se acumulan el mayor número de distintas proteínas. Por otra parte, tanto para la alfa 1 como para la alfa 2, es sabido la facilidad con que algunas proteínas contenidas en estas bandas tienen la propiedad de adoptar movi- lidades electroforéticas distintas. Esto es bien conocido en el sue- ro para alguna lipoproteína, que puede comportarse como alfa 1 o como prealbúmina, según el estado digestivo del sujeto, o por la acción de la heparina. Este punto último tiene un aspecto de in- terés práctico que conviene resaltar: la precaución que debe guar- darse cuando la recogida o la conservación del l.c.r. concentrado se verifica con tubos capilares, en no utilizarlos heparinizados, ya que éstos son de uso habitual en el laboratorio y pueden dar lugar a artefactos en la movilidad como el descrito.

Afortunadamente, esta dispersión en los valores medios no se observa en las restantes fracciones, que en la mayoría de los ca- sos son las que más interesa valorar, tanto en el sujeto normal como en el enfermo.

Con el fin de analizar la repercusión que tiene sobre los valo- res electroforéticos del l.c.r. el grado de concentración alcanza- do y, de paso, la fidelidad de los resultados, sabido que no se puede garantizar que vaya a alcanzarse la misma intensidad de con- centración en todos los l.c.r., hemos practicado el estudio electro- forético a quince casos y en cada uno de ellos a tres distintos gra- dos de concentración [a) concentración aparentemente idónea; b) concentración menos intensa; c) menor grado de concentra- ción que el anterior]. Hemos podido observar algunos hechos de interés:

1.º Conforme la intensidad de la concentración es menor, la prealbúmina tiende a desaparecer artefactando los valores de lectura de otras fracciones. Esta observación debe tenerse en cuen- ta a la hora de buscar explicación a otros hechos, tales como: la escasa proporción de prealbúmina existente en el suero, que no exige concentración previa a su electroforesis, el aumento que de esta fracción se experimenta en el l.c.r. ventricular, cuya pro- teinorraquia es inferior a la del espinal y que, por tanto, debe so- meterse a una intensa concentración y la progresiva desapa- rición de prealbúmina en ciertos l.c.r. patológicos conforme en ellos se hace más intensa la hiperproteinorraquia. No obs- tante, existen otros tipos de factores en juego sobre los que ha-

remos hincapié al hablar del origen de las proteínas del l.c.r. Observaciones idénticas son hechas por Lowenthal (1964), haciendo notar igualmente oscilaciones del valor de prealbúmina en el sentido descrito.

2.º La disminución en la intensidad de la concentración repercute especialmente sobre las alfas, acentuando la debilidad de la fracción alfa 1 y la imprecisión de los límites de alfa 2. Sin embargo, la suma de ambas fracciones, a pesar de estar artefactadas, viene a ser la misma, ya que la disminución en el valor de alfa 1, suele compensarse por el aumento falso que se obtiene de alfa 2, ya que desaparece su "pico" y la lectura se realiza sobre una "meseta" más baja pero de extensión mucho más amplia, desde beta 1 hasta casi alfa 1.

3.º Las bandas correspondientes a betas y gamma conservan muy bien su precisión, sus valores relativos apenas varían, siendo a nuestro juicio ésta la base del interés práctico del cociente entre gamma y beta introducido por Bergmann y cols. en 1964.

En realidad, Bergmann, Olanders y Svennerholm, en 1964, no hicieron sino intentar sistematizar esta relación gamma l.c.r./beta l.c.r., y actualizarla, ya que con anterioridad Bélanger, Laroche Poudrier y Martin (1962) estudiaron dicho cociente en 97 casos de esclerosis múltiple; y Schinke y Tschabitscher (1959) estudiaron la relación gamma l.c.r./gamma suero, en 250 casos de la misma enfermedad, para poner patente la elevación de la cifra relativa de gamma globulina en l.c.r. en comparación a la normalidad de su homóloga sérica. La cifra superior de normalidad dada por Bergmann y cols. para ambos cocientes fue fijada de forma un tanto arbitraria en 0,75.

En nuestro trabajo hemos estudiado la relación existente entre gamma l.c.r. y betas l.c.r., siendo finalmente su valor normal, con probabilidad del 95 por 100, en nuestra población, el de  $0,664 \pm 0,165$ . Del mismo modo, hemos estudiado esta relación en los quince casos a los que practicamos electroforesis a distintos grados de concentración, sorprendiéndonos la constancia de su cifra para cada caso, lo cual, en definitiva, no es sino expresión, como ya apuntamos antes, de la nitidez conservada por las bandas beta y gamma, a pesar de las variaciones de concentración.

COCIENTES GAMMA L.C.R./BETA L.C.R. EN LOS CASOS CONTROL

1) 0,617	26) 0,615	51) 0,675	76) 0,717
2) 0,626	27) 0,710	52) 0,749	77) 0,625
3) 0,833	28) 0,705	53) 0,705	78) 0,644
4) 0,692	29) 0,621	54) 0,655	79) 0,682
5) 0,659	30) 0,537	55) 0,521	80) 0,642
6) 0,448	31) 0,658	56) 0,743	81) 0,696
7) 0,686	32) 0,704	57) 0,580	82) 0,572
8) 0,861	33) 0,650	58) 0,707	83) 0,837
9) 0,656	34) 0,634	59) 0,587	84) 0,724
10) 0,766	35) 0,620	60) 0,722	85) 0,692
11) 0,633	36) 0,550	61) 0,735	86) 0,511
12) 0,634	37) 0,653	62) 0,593	87) 0,571
13) 0,680	38) 0,633	63) 0,669	88) 0,772
14) 0,492	39) 0,666	64) 0,583	89) 0,678
15) 0,798	40) 0,632	65) 0,606	90) 0,502
16) 0,680	41) 0,650	66) 0,697	91) 0,723
17) 0,613	42) 0,757	67) 0,510	92) 0,723
18) 0,577	43) 0,675	68) 0,772	93) 0,597
19) 0,698	44) 0,609	69) 0,713	94) 0,661
20) 0,664	45) 0,799	70) 0,557	95) 0,797
21) 0,668	46) 0,735	71) 0,642	96) 0,808
22) 0,755	47) 0,626	72) 0,595	97) 0,616
23) 0,547	48) 0,641	73) 0,660	98) 0,823
24) 0,700	49) 0,612	74) 0,657	99) 0,758
25) 0,640	50) 0,786	75) 0,862	100) 0,636

OBTENCION DEL VALOR MEDIO NORMAL DEL COCIENTE  
DE BERGMANN

Clase	Valor repre- sentativo $x_i$	Frecuencia $f_i$	$x_i f_i$	$x_i^2 f_i$
0,426-0,475	0,450	1	0,450	0,2025
0,476-0,525	0,500	5	2,500	1,2500
0,526-0,575	0,550	6	3,300	1,8150
0,576-0,625	0,600	17	10,200	6,1200
0,626-0,675	0,650	27	18,850	12,2525
0,676-0,725	0,700	22	15,400	10,7800
0,726-0,775	0,750	10	7,500	5,6250
0,776-0,825	0,800	6	4,800	3,8400
0,826-0,875	0,850	4	3,400	2,8900
<b>S</b>		<b>100</b>	<b>66,400</b>	<b>44,7750</b>

$$m = \bar{x} = \frac{1}{n} \cdot S x_i f_i = \frac{66,4}{100} = 0,664$$

$$a = \frac{1}{n} \cdot S x_i^2 f_i = 0,44775$$

$$s = \sqrt{a - m^2} = 0,08278$$

$$\text{Error "standard" de la media} = t \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} = t \cdot \frac{0,08278}{\sqrt{100}} \simeq 0,0165$$

Valor normal del cociente de Bergmann en la población estudiada =  
=  $0,664 \pm 0,0165$  (con  $p < 0,05$ )

Límites de normalidad =  $m \pm 2 s = 0,664 \pm 0,165$

El concepto de movilidad relativa surgió de la necesidad inicial de identificar las bandas electroforéticas del l.c.r. y fue introducido por Wieme en 1959. Por movilidad relativa se entiende la movilidad de las fracciones con relación a una solución "standard" de albúmina humana, siderofilina y dextrano al 1 por 100. La posición del dextrano corresponde al punto de movilidad cero, y la distancia entre este punto y la solución de albúmina se acepta como la unidad. De esta forma, por un simple cálculo puede conocerse la movilidad relativa de cada una de las fracciones. Estas medidas pueden efectuarse directamente sobre la tira electroforética, o sobre la imagen ampliada por un proyector (Lowenthal) para obviar los inconvenientes de la pequeña longitud de la tira y en beneficio de la buena conservación de la misma evitando manipulaciones que puedan dañarla.

La medida de la movilidad relativa puede efectuarse del mismo modo sobre la placa de agar-gel que sobre la tira de papel o acetato de celulosa. En el caso del papel, en cualquiera de sus variedades, el dextrano no se desplaza por carecer de carga eléctrica. El desplazamiento de esta misma sustancia en el agar, desde la puesta central de la muestra hasta el punto cero de movilidad, no se debe por ello a la carga eléctrica, sino a un fenómeno electroendosmótico del agar.

La movilidad relativa de la prealbúmina aparece en el E.E.F. del l.c.r. ligeramente más rápida que su homóloga en el suero. Esta diferencia no es sino un artefacto, probablemente debido a la mayor concentración existente en el l.c.r., ya que las preparaciones de prealbúmina sérica purificada muestran la misma movilidad que la prealbúmina del l.c.r. (Laterre, 1965).

La albúmina del l.c.r. muestra del mismo modo una muy leve superior movilidad con relación a la del suero, fenómeno que no se observa en los l.c.r. hiperproteicos, como nosotros mismos hemos podido comprobar, basados en la observación de Philippart (1961) en casos de síndrome de Guillain-Barré, estudiados por este autor. Laterre sugiere un enriquecimiento de lípidos por parte de la albúmina en su paso desde el plasma al l.c.r. para explicar esta diferencia en su movilidad, por otra parte, mínima. Según esta hipótesis, los l.c.r. hiperproteicos mostrarían una albúmina de movilidad similar a la del suero, por estar aumentada la permeabilidad de la B.H.E.

Las globulinas alfa 1, alfa 2, beta 1 y gamma, del l.c.r. normal muestran una movilidad similar a la de sus correspondientes en el suero, teniendo en cuenta en lo que respecta a las gamma, la diferencia de amplitud en su banda, mayor en el suero, a causa de poseer una IgG más cuantiosa y de características en ciertos as-



pectos distintas, como después veremos, y de existir en el suero IgM e IgA, de las que el l.c.r. normal carece.

La globulina tau del l.c.r. presenta una movilidad algo menor que la beta 2 del suero. Entre la beta 1 y la tau, con alguna frecuencia se encuentra beta 2 en el l.c.r. con la misma movilidad que la del suero.

Las movilidades relativas que hemos obtenido en nuestros casos normales para las bandas electroforéticas del l.c.r. han sido las siguientes:

Prealbúmina ... ..	1,200
Albúmina ... ..	1,000
Alfa 1 ... ..	0,800
Alfa 2 ... ..	0,616
Beta 1 ... ..	0,466
Beta 2 ... ..	0,400
Tau ... ..	0,356
Gamma ... ..	0,116

Una vez familiarizados con el perfil electroforético del l.c.r. normal, y conocidas las movilidades que adoptan las diferentes bandas, hemos optado por abandonar la colocación sistemática de la solución "standard", en virtud de los siguientes criterios.

1.º La variación en la movilidad de la prealbúmina respecto a la del suero carece de interés. La variación de la albúmina, es mínima y constante. La banda de beta 1, es de movilidad idéntica a la del suero, y sin variaciones en la misma. Por tanto, los puntos correspondientes a dextrano y transferrina, quedan señalados constantemente en la tira de acetato de celulosa, por la marca de aplicación, y por la banda beta 1, respectivamente. Y el punto de movilidad albúmina queda sujeto a una variación mínima y constantemente de la misma intensidad, en los l.c.r. normoproteicos, tomando como referencia la albúmina del l.c.r. investigado. En los l.c.r. hiperproteicos, la movilidad de la albúmina es del orden de varias milésimas menos que en los de proteinorraquia normal, y este error disminuye todavía al calcular la movilidad relativa de cualquier otra fracción.

2.º Las bandas alfa, como ya hemos dicho, pueden presentar variaciones en su movilidad, sin relación con ningún proceso patológico. El tomar en cuenta de forma constante la movilidad relativa de estas bandas, llevaría a errores en su interpretación, considerándolas como subfracciones distintas, sin poderles atribuir ninguna peculiaridad específica (es el caso de las alfa 0, alfa i, alfa "2, alfa 'e, de la nomenclatura de Lowenthal).

3.º La existencia de bandas de movilidad negativa respecto al punto cero, quedan igualmente definidas, con o sin la aplicación de solución "standard".

4.º En los casos en los que existe problema para la identificación de una banda, es preferible a la solución "standard" la colocación simultánea de una muestra de suero conocido, que permite identificar un mayor número de fracciones, o incluso de soluciones de composición conocida, tales como extractos de IgM, que nosotros hemos utilizado en alguna ocasión como primer paso en la identificación de alguna banda sospechosa de movilidad anormal. Si la incógnita no queda resuelta es el momento de utilización de técnicas inmunolectroforéticas y químicas para su caracterización.

Por estas razones creemos que es superponible en la práctica habitual de esta técnica los valores de movilidad relativa obtenidos tomando como referencia una solución "standard", a los conseguidos considerando la unidad a la distancia existente entre el punto cero y la albúmina del l.c.r. al que se practica electroforesis. Teniendo en cuenta que se cumplan siempre dos factores: a) técnica constante y en las mismas condiciones; b) que en el sustrato utilizado quede constancia, con la aplicación de la muestra, del punto aceptado convencionalmente de movilidad nula.

## PROTEINAS PLASMATICAS DEL L.C.R. NORMAL

La inmunolectroforesis del l.c.r. frente a un suero anti-suero humano-total, pone de manifiesto las líneas de precipitación de las proteínas comunes a las del suero existente en el l.c.r.

La imagen inmunolectroforética del l.c.r. en este tipo de examen, difiere fundamentalmente de la del suero por una considerable disminución de la riqueza de bandas de precipitación. Dentro de ello, se observan algunas características peculiares: 1.º La mayor frecuencia de aparición de la banda de prealbúmina, así como una mayor intensidad en su línea de precipitación que la correspondiente al suero. 2.º La región alfa 1 difiere poco con respecto al suero, pero en la región alfa 2 es donde más se pone de relieve la pobreza en líneas de precipitación del l.c.r. No es evidente como en el suero el escalonamiento en esta zona de las tres líneas correspondientes a alfa-2-macroglobulina, ceruloplasmina y haptoglobina, debido a la ausencia de la primera y a la existencia muy débil de las dos restantes. Lo mismo sucede en la región alfa-2-beta, por la pobreza de la línea de hemopexina en el l.c.r., así como su escasez en lipoproteínas. 3.º En la región beta es muy

ostensible el doble trazo curvo de precipitación de la transferri-  
na, correspondiendo el arco más rápido y breve a la tau, mencio-  
nada cuando hablábamos de la imagen electroforética. 4.º En la  
zona gamma prácticamente sólo se observa el trazo de precipita-  
ción correspondiente a la IgG, la cual suele adoptar una movili-  
dad de tipo medio, siendo en general débil el trazo de precipita-  
ción en la porción más próxima a la región beta del mismo.

Las características de cada una de las proteínas plasmáticas  
existentes en el l.c.r. son las siguientes:

**PREALBÚMINA.**—La historia de esta proteína es tan antigua  
como la misma electroforesis del l.c.r., ya que fue una de las pri-  
meras en ser evidenciadas en este fluido, e incluso durante algún  
tiempo considerada específica del mismo. Fue descrita inicialmen-  
te por Kabat (1942), con la denominación de Proteína-x, y confir-  
mada su existencia en el l.c.r. por Scheid y Scheid (1944), Fisk y  
colaboradores (1951), y Hoch y Cahnutin encuentran por primera  
vez la prealbúmina del suero. En 1954, es aislada por Aly, quien  
indica su alto contenido en triptófano; su coeficiente de sedimen-  
tación queda fijado en 4,2, y tiene una tasa de hexosaminas del  
0,4 al 1,4 por 100, y de N del 16 por 100.

La línea de precipitación inmunoelectroforética de la prealbú-  
mina es identificada en el suero por Grabar y Williams (1955), y  
en este mismo año Gavrillesco y cols. la ponen en evidencia en el  
l.c.r., denominándole  $\rho$ . En 1956, Schultze y cols. aíslan del suero  
una fracción que denominan "Prealbúmina rica en triptófano".  
Para estos autores tiene un coeficiente de sedimentación de 4,2.  
En su composición existe 1,2 por 100 de hexosas, 0,15 por 100 de  
hexosaminas y nada de ácido siálico. Aly, en 1957, identifica la  
"Vor-Fraktion" con la prealbúmina de Schultze.

Para Schultze y Schwick (1959), esta proteína representaría  
en el suero humano el 0,4 por 100 de las proteínas totales, que  
significaría en cifras absolutas 28-35 mgs./100 ml. El valor rela-  
tivo de esta proteína es muy superior en el l.c.r., y la relación me-  
dia en valor absoluto entre la prealbúmina sérica y la del l.c.r.  
por ml. de ambos fluidos es de 15:1, mientras que la relación de  
las proteínas totales entre los mismos es de 250:1.

Por el mismo motivo de la riqueza en triptófano de esta pro-  
teína, Laterre (1965), la denomina "Prealbúmina (Try)".

La marcada desproporción en dicha proteína entre el suero y  
el l.c.r. ha sido y es motivo de numerosos debates, al ser conside-  
rada por algunos específica, parcialmente al menos, del l.c.r. Se  
pensó que su lugar de fabricación fuese el parénquima cerebral,  
basados en algunos trabajos que se inician con el de Booiij (1958)

al mostrar la existencia de fracciones prealbumínicas en homogeneizados de tejido cerebral. Esto mismo es confirmado por Karcher y cols. (1959), Allegranza y Marobbio (1960-1962) y Chatagnon y Chatagnon (1960), encontrando todos estos autores la existencia de tres fracciones prealbumínicas por electroforesis en agar de los homogeneizados de tejido cerebral. En número de 4 las encuentra Van Sande (1962), y un total de 5 es descrito por Gerhardt-Hansen y Clause (1962). Por electroforesis de sustancias similares en gel de almidón describen igualmente varias fracciones prealbumínicas Commings en 1961, y Bernsohn y colaboradores (1961). En 1962, Gerhardt-Hansen y Clausen describen una línea de precipitación prealbumínica por inmunelectroforesis de extractos de tejido cerebral, si bien no son capaces de asegurar que corresponda a la prealbúmina del suero.

Es muy interesante a este respecto la aportación de Laterre (1965), quien estudiando las prealbúminas del tejido cerebral en relación con la prealbúmina del l.c.r. normal, por medio de electroforesis en disco e inmunolectroforesis, muestra la no identidad entre ambos tipos de prealbúmina, descartando por tanto la formación parenquimatosa de dicha proteína. De otro lado, el mismo autor realiza estudios de histo-inmunofluorescencia en los plexos coroideos, llegando a la conclusión de que estas estructuras no tienen capacidad de producción de prealbúmina, siendo probable que jueguen un papel de enriquecimiento en prealbúmina en el paso de esta proteína desde el suero al l.c.r.

En un apartado de nuestro trabajo hemos podido observar las variaciones de la cifra relativa obtenida en los l.c.r. en función del grado de concentración de los mismos. Igualmente es de interés el hecho de la pobreza en prealbúmina de los l.c.r. hiperproteicos, habitualmente necesitados de una muy pequeña concentración para su estudio; y, por el contrario, la elevación en dicha proteína de los l.c.r. hipoproteicos que exigen un alto grado de concentración.

En resumen, la prealbúmina del l.c.r. puede considerarse idéntica a la del suero, de indudable origen plasmático, y cuyo porcentaje superior en el l.c.r. puede ser debido a un selectivismo en el paso a través de la B.H.E. o simplemente a un artefacto de concentración.

Los hallazgos por algunos de prealbúmina de movilidad igual a la del suero en homogenizados de tejido cerebral, puede atribuirse por su inconstancia y debilidad a contaminación post-mortem o a lesiones de la B.H.E. que se producen en estas circunstancias.

El peso molecular de la prealbúmina es de 61.000.

**ALBÚMINA.**—Esta proteína, la más cuantiosa en el suero y l.c.r. cumple una misión de regulación de la presión osmótica, y por otra parte de vector de la mayoría de productos metabólicos y hormonales.

Su valor absoluto en el suero es de 3.500-4.500 mg./100 ml. Su dosificación inmunoquímica en el l.c.r. proporciona cifras de  $14,49 \pm 4,37$  mg./100 ml. (Goodman y Vulpe, 1961). Su peso molecular es de 69.000.

**ALFA 1 - GLICOPROTEÍNA ÁCIDA.**—También denominada alfa 1-seromucoide y seromucoide. Goodman y Vulpe (1961) dan valores de 80 mg./100 ml. para esta proteína en el suero, y de 0,29 mg./100 ml. en el l.c.r., que trasladado a valores relativos indica una cifra discretamente inferior a la del suero.

Su peso molecular es de 44.100.

**ALFA 1 - ANTITRIPSINA.**—Denominada también alfa 1-3.5 S Glicoproteína de Schultze. Fue aislada por Schultze y cols. en 1955, e identificada posteriormente como el "alfa 1-tripsininhidor" de Bundy y Mohl. En el suero representa aproximadamente el 50 por 100 de la fracción alfa 1. En el l.c.r. se encuentra constantemente en cantidad todavía no determinada. Su peso molecular es de 45.000.

**ALFA 1 - LIPOPROTEÍNA.**—Esta proteína representa del 3,3 al 5 por 100 de las proteínas totales del suero, que significa un valor absoluto de 250 a 380 mg./100 ml. En el l.c.r. normal se encuentra siempre, si bien en cantidades mínimas. Según Dencker y Swahn (1961), esta proteína está presente en todos los l.c.r. normales en cantidad muy pequeña, y en los casos en que se halla en mayor abundancia se reparte en dos bandas, una de situación alfa 1, y otra más rápida. Ya hemos mencionado en otro apartado las variaciones de su movilidad en virtud de la heparina y de algún otro factor. Su peso molecular es de 195.000 a 435.000.

**ALFA 2 - MACROGLOBULINA.**—Considerada inexistente en el l.c.r. normal por Burtin en 1959, fue puesta en evidencia, si bien en cantidad mínima, por Clausen (1960). Posteriormente ha sido encontrada con regularidad en los l.c.r. normales (Dencker y cols., 1961; Rosenthal y Scothil, 1962). Constituye del 3 al 5 por 100 de las proteínas del suero, que expresado en valor absoluto representa de 220 a 380 mg./100 ml. Fue aislada por Schultze y colaboradores (1955); posee un coeficiente de sedimentación de 19,6 y un peso molecular de 820.000. A efectos prácticos, repetimos, es casi inexistente en el l.c.r. de sujetos normales.

**CERULOPLASMINA.**—Fue aislada e identificada por vez primera por Holmberg y Laurell (1948). Es la proteína que vehicula el

cobre. Tiene un coeficiente de sedimentación de 7,1 y un peso molecular de 160.000. Aprovechando sus propiedades de polifenoloxidasas puede ponerse fácilmente en evidencia utilizando como reactivo específico la parafenilenediamina (Uriel, 1960). No obstante, Burtin en 1960 fracasa en su intento de demostrar la existencia en l.c.r. de dicha proteína por la reacción descrita por Uriel. Clausen (1960) encuentra la línea de precipitación correspondiente a esta proteína en el l.c.r. Según Jensen (1963) la escasa proporción de esta proteína en el l.c.r. normal es la causa de que no dé la reacción de la parafenilenediamina positiva, si no se concentra altamente el producto. La cantidad media de esta proteína en el l.c.r. sería para Goodman y Vulpe (1961) de 0,13 mg./100 ml., mientras que sería de 29 mg./100 ml. su cantidad en suero.

**HAPTOGLOBINA.**—Existen tres tipos genéticamente distintos de esta proteína, que pueden ser reconocidos por la presencia de polímeros de movilidad electroforética distinta, aprovechando la capacidad de la haptoglobina para ligarse a la hemoglobina. Los diferentes polímeros de la haptoglobina presentan una mayor lentitud electroforética conforme su peso molecular aumenta. Burtin (1960) considera la existencia constante pero en cantidad insignificante de esta proteína en el l.c.r. Igualmente ha concluido Clausen (1960), Parker y Bearn (1962) y Blau y cols. (1963). El peso molecular de la haptoglobina 1-1 es de 100.000.

**ALFA 2 Y BETA LIPOPROTEÍNA.**—Agrupamos estas dos proteínas ya que en realidad representan un complejo mal precisado cuya movilidad es alfa 2-beta pero constituido por diversas fracciones de densidad distinta. La primera de ellas tiene un peso molecular de 3.400.000 y la segunda de 1.300.000. Han sido consideradas inexistentes en el l.c.r. por la mayoría de los autores (Bauer, 1956; Smith y cols., 1956; Plum y Fog, 1959; Dencker y Swahn, 1961, etcétera), a pesar de lo cual Frick (1960) utilizando la doble difusión, considera que estas proteínas se encuentran en cantidades insignificantes en el l.c.r. normal si éste se concentra intensamente por diálisis bajo el vacío.

**TRANSFERRINA.**—Debe su nombre a la propiedad de vehicular gran parte del hierro sérico. Constituye uno de los principales componentes de las beta 1 proteínas del suero, representando del 3 al 3,5 por 100 de las proteínas plasmáticas. Su cifra relativa en el l.c.r. es igual o ligeramente superior a la del suero. La principal característica de esta proteína en el l.c.r. es su doble movilidad electroforética, ya puesta de relieve por Ewerbeck (1950) en electroforesis sobre papel, indicando la existencia de una banda situada entre las beta 1 y gamma globulinas. La misma observación es hecha por Bücher y cols. en 1952, con la denomina-

ción de tau. Inicialmente esta banda de movilidad ligeramente inferior a la beta 2 sérica fue considerada específica del l.c.r. Bur-  
tin (1959) la identifica como transferrina. Posteriormente, nu-  
merosos estudios inmunolectroforéticos muestran (y así lo he-  
mos podido comprobar en nuestro trabajo) la identidad antigé-  
nica entre esta banda y la transferrina del suero.

Esta cuestión de la doble movilidad electroforética de la trans-  
ferrina en el l.c.r. ha sido objeto de importantes trabajos, para  
encontrar una explicación satisfactoria a este fenómeno. Pette y  
Stupp, en 1960, tratan muestras del l.c.r. por neuraminidasa, ba-  
sados en los trabajos de Schultze y Schwick (1957) sobre el suero  
humano y las glicoproteínas del mismo. Observan, sorprendente-  
mente, que toda la transferrina del l.c.r. por este tratamiento  
adopta movilidad de banda tau. Esta observación es ampliada en  
1962 por Parker y Bearns, quienes someten transferrina a la ac-  
ción de concentraciones sucesivamente crecientes de neuraminida-  
sa. Teniendo en cuenta que la transferrina contiene cinco grupos  
de ácido siálico, la pérdida total de éste determina la movilidad  
tipo tau de la transferrina.

Laterre (1965) realiza un trabajo similar mostrando la ac-  
ción de la neuraminidasa sobre la movilidad electroforética de la  
transferrina. Por otra parte muestra la ausencia de proteínas so-  
lubles cerebrales con movilidad tau. Por todo ello, y apoyado por  
el hallazgo de neuraminidasa en el parénquima cerebral humano  
por Warren y Sparing (1960) y por Morgan y Laurell (1963), ela-  
bora una sugestiva teoría acerca de la fracción tau en el l.c.r.  
Para este autor, la transferrina plasmática, una vez atravesada  
la B.H.E. quedaría sujeta a la acción de la neuraminidasa cere-  
bral, que determinaría su movilidad tau. La simultánea presen-  
cia de la transferrina de movilidad sérica normal, quedaría expli-  
cada por la constante renovación del l.c.r., y el consiguiente apor-  
te, también permanente de proteínas plasmáticas a los espacios  
subaracnoideos. La neuraminidasa no tendría efectos valorables  
sobre la movilidad electroforética de otras glicoproteínas del l.c.r.,  
tales como haptoglobina, ceruloplasmina y alfa 2 macroglobulina,  
en razón de la escasa proporción de las mismas en l.c.r. y de la  
gran cantidad de unidades de ácido siálico que estas proteínas con-  
tienen (10, 15 y 50, respectivamente), no pudiendo, por tanto, la  
pérdida de alguna de ellas tener repercusión sobre la movilidad  
electroforética de estas glicoproteínas.

Finalmente interesa saber que tanto adoptando la movilidad  
electroforética beta 1 en el suero, como la de tau en el l.c.r., la  
transferrina conserva la misma capacidad de vehicular al hierro.

La transferrina posee un coeficiente de sedimentación de 5,5 y su peso molecular es de 90.000.

**BETA 1-AC-GLOBULINA.**—Constituye uno de los componentes del complemento. Su movilidad electroforética varía en el suero entre beta 2 y beta 1 según que el producto sea fresco o viejo, respectivamente. Ha sido indentificada en el l.c.r. normal por Clausen, en 1960.

**BETA 2-B-GLICOPROTEÍNA.**—Es dudosa su existencia en el l.c.r. normal, habiendo sido negada por Svehnilson y cols. (1961). Fue aislada por Schultze y cols. (1961), aunque fue Heremans (1969) quien por vez primera la identifica, bajo la denominación de beta 2-X.

**BETA 2-K.**—Fueron Good y cols. (1960), quienes la describieron en el suero de agammaglobulinémicos. En el suero normal fue evidenciada por Rosen y cols. (1961). Laterre (1965) encuentra una banda de precipitación que atribuye a beta 2-K en el suero de un sujeto normal, en el de un agammaglobulinémico, y en el l.c.r. de un caso de carcinomatosis meníngea.

**INMUNOGLOBULINA M (IgM).**—De peso molecular próximo al millón, no existe en l.c.r. normal.

**INMUNOGLOBULINA A (IgA).**—Aislada por Heremans (1960), no parece existir en el l.c.r. normal, aunque Burtin (1960) y Clausen (1960) señalan su presencia en cantidades insignificantes.

**INMUNOGLOBULINA G (IgG).**—De coeficientes de sedimentación 6,6 y 7,2, y pesos moleculares, respectivamente, 156.000 y 161.000, representa del 15 al 24 por 100 de las proteínas totales del suero, que en valor absoluto constituye de 1.200 a 1.800 mg./100 ml. En el l.c.r. se encuentra constantemente y en cantidades muy inferiores a las del suero, aproximadamente entre 2 y 4 mg./100 ml.

Ha sido observado en varios trabajos, entre ellos Mataka y Clausen (1965), el tipo de movilidad media que adopta la IgG del l.c.r. normal, observable especialmente por inmunoelectroforesis. Esta misma diferencia respecto a la IgG sérica se ha apreciado habitualmente en nuestro trabajo. Este punto creemos que debe ser objeto de aclaración, ya que sobre la identidad o diferencia de esta inmunoglobulina en el suero, l.c.r. normal, y l.c.r. de ciertas condiciones patológicas, descansan los aspectos actuales más interesantes de estos tipos de trabajos.

Según el método de Fleischman, Pain y Porter (1962), modificado en 1966 por Sjöquist, la IgG parcialmente reducida y alquilada posteriormente en presencia de 8M urea, libera sus cadenas pesadas y ligeras, las cuales son recogidas separadamente por cromatografía en columna de Sephadex G-200. Por electroforesis



se observa la disposición de ambas y solamente se puede distinguir una cadena pesada de una ligera, no siendo posible individualizar entre dos de ellas del mismo grupo. La distancia entre dos bandas de cadenas pesadas es siempre la misma y la distancia entre dos de cadenas ligeras también lo es.

El 74 por 100 de la IgG está constituido por cadenas pesadas, y el 26 por 100 restante por cadenas ligeras, y de éstas el 70 por 100, aproximadamente, corresponde a cadenas  $\kappa$ , y el 30 por 100 a cadenas  $\lambda$ . Link (1967) muestra que la IgG del l.c.r. está compuesta por cadenas pesadas, ligeras,  $\kappa$  y  $\lambda$ , en la misma proporción que la del suero. El comportamiento inmunológico es idéntico también para ambas IgG, como fue demostrado por inmunodifusión utilizando antisuero contra IgG sérica por Frick y Scheidseidel (1957), y confirmado por Rosenthal y Scothill (1962), y Gaspari (1965).

Es decir, que la IgG del l.c.r. tiene un comportamiento inmunológico y una estructura íntima, a la luz de los conocimientos actuales, idénticos a su homóloga sérica. En la inmunoelectroforesis la frecuente difuminación o ausencia de la porción anódica de su línea de precipitación en el l.c.r. normal, no es expresión de una diferencia cualitativa, sino cuantitativa.

#### PROTEINAS NO PLASMATICAS DEL L.C.R. NORMAL

Desde los primeros estudios electroforéticos practicados en el l.c.r. se ha planteado la cuestión de si éste es o no un simple filtrado de plasma a través de una membrana de permeabilidad más o menos selectiva. Ya hemos visto cómo algunas de las proteínas habitualmente existentes en el plasma no se encuentran en el l.c.r. en condiciones normales; las proteínas plasmáticas atraviesan la B.H.E. en función, en líneas generales, de su talla y de su peso molecular, no encontrándose prácticamente en el l.c.r. ninguna proteína cuyo peso molecular exceda de 150.000.

Hasta hace pocos años se sospechó que ciertas proteínas plasmáticas del l.c.r. fueran específicas del fluido cerebroespinal, en virtud de algunas características peculiares, unas veces de aspecto cuantitativo, otras por variaciones en su movilidad electroforética. Es el caso de la prealbúmina y tau, a propósito de las cuales hemos visto su naturaleza plasmática, hoy conocida sin lugar a dudas.

Por otra parte, hemos mencionado el hallazgo relativamente frecuente observado por la mayoría de los autores, y por nosotros, de bandas cuya movilidad electroforética, inferior al punto cero,

no tienen correlación electroforética con ninguna proteína del suero. Corresponden a la "fast-gamma" observada por Pert y Kutt (1958) en gel de almidón, y a la "post-gamma" de Laterre y Heremans (1963), por emplear dos de las nomenclaturas más empleadas, basadas ambas en esta característica movilidad en electroforesis.

Clausen (1961) obtuvo un suero de conejo anti-l.c.r. humano, y observó por inmunoelectroforesis que el l.c.r. normal mostraba la existencia de dos bandas de precipitación que no se encontraban en el suero. Absorbiendo el suero anti-l.c.r. con suero humano, pudo comprobar la especificidad de estas dos fracciones para el líquido cefalorraquídeo.

El hallazgo de proteínas no plasmáticas en el l.c.r. humano normal ha sido confirmado por los trabajos de diversos autores, tales como Hochwald y Thorbecke (1962), Mac Pherson (1962), Laterre y Heremans (1963), Frick (1965), Link (1965) y Heitmann y Uhlenbruck (1966), Hochwald y Thorbecke (1962) designaron a estas fracciones con los nombres de "beta-trace" y "gamma-trace", ya que la primera de ellas se extendía en inmunoelectroforesis desde la región alfa 2 hasta la zona media gamma, y la segunda en pleno territorio gamma.

En sucesivos trabajos, Laterre y cols. (1963-1965), utilizando sueros anti-l.c.r. absorbidos por suero humano, muestran la existencia de dos fracciones más importantes, y de otras ocho al estado de trazos, todas ellas inexistentes en el suero humano. Proponen una nomenclatura diferente a la empleada por Clausen, denominando a cada fracción con tres letras; la primera, indicando su movilidad general, la segunda su movilidad de forma más precisada, y la tercera siempre es una T, que significa "tisular", para indicar su origen no plasmático. Por este procedimiento quedan establecidas para estos autores las siguientes proteínas no plasmáticas del l.c.r.: alfa-2-a-T; alfa-2-b-T; alfa-2-c-T; alfa-2-d-T; alfa-3-a-T; alfa-3-b-T; alfa-3-c-T; beta-1-a-T; beta-2-a-T; delta-a-T. De todas estas fracciones dos son las fundamentales: beta-2-a-T y delta-a-T, correspondientes a las beta-trace y gamma-trace de Clausen. Esta última es la identificación inmunoelectroforética de la "post-gamma" de movilidad electroforética inferior a cero, o "fast-gamma" de Pert y Kutt.

Kutt y cols. (1960), mencionan que esta fracción desaparece con la conservación del l.c.r. durante varios meses. Laterre (1965) muestra inmunoelectroforéticamente la aceleración de esta proteína por efecto de la conservación del l.c.r. practicando exámenes a productos mantenidos a 37° durante 8, 12, 16, 24, 48 y 72 horas; por el contrario, no se modifica su situación electroforéti-

ca durante varios meses si el l.c.r. se conserva a temperatura de  $-20^{\circ}$ .

Hochwald y Thorbecke (1963) observan el fenómeno de enlentecimiento de la "beta-trace" por acción de la neuraminidasa. Laterre (1965), confirma este mismo hecho para dicha proteína (beta-2-a-T, de su nomenclatura), y lo hace extensivo a alfa-2-b-T y a la alfa-2-c-T. Ello induce a pensar que estas tres proteínas tienen naturaleza glicoproteica.

La beta-trace ha sido encontrada, utilizando suero anti-l.c.r., en orina (Hochwald y Thorbecke, 1962; Laterre, Heremans y Carbonara, 1964), y en líquido ascítico (Hochwald y Thorbecke, 1962). La gamma-trace, se ha identificado igualmente en orina (Hochwald y Thorbecke, 1962; Laterre, Heremans y Carbonara, 1964), en líquido pleural (Hochwald y Thorbecke, 1962). Ambas se encuentran en extractos de tejido cerebral (Laterre, Heremans y Carbonara, 1964).

En oposición a los anteriores hallazgos de proteínas no plasmáticas en el l.c.r. normal, Dencker y Swahn (1962) utilizando un suero de conejo anti-l.c.r. de sujetos en su mayoría afectados de tumor cerebral, muestran la existencia de tres líneas de precipitación en l.c.r. de individuos enfermos de diferentes procesos neurológicos, no existiendo en el suero de los mismos. Las denomina, respectivamente, C-beta-2:1; C-beta-2:2 y C-gamma. Pero estas líneas de precipitación no son obtenidas por estos autores en el l.c.r. de individuos sanos.

En 1965, Link aísla la beta-trace y la gamma-trace, mostrando que el peso molecular de ambas es notablemente inferior al de la albúmina, y que las moléculas de gamma-trace son menores que las de beta-trace.

Link (1967) estudia la movilidad de ambas fracciones en electroforesis sobre agar gel. La beta-trace forma tres subfracciones de movilidad "gamma rápida" (gamma 1, 2 y 3 de la nomenclatura de Lowenthal). La gamma-trace adopta movilidad gamma 5. La IgG, igualmente aislada por este autor, presenta movilidad de gamma 4. Es decir, dentro del territorio gamma, la beta-trace de movilidad rápida, la IgG de movilidad media-lenta, y la gamma-trace de movilidad negativa. El subfraccionamiento de la beta-trace está en relación con moléculas conteniendo diferentes proporciones de ácido siálico, accesible a la acción de la neuraminidasa. La cuantificación de la beta-trace por métodos inmunológicos arroja un valor medio de 2,6 mg./100 ml. en el l.c.r. normal. El peso molecular de la beta-trace es de 31.000 y su coeficiente de sedimentación de 2,3 S.; está constituida por una simple cadena

de polipéptidos, con la existencia de dos enlaces disulfido por molécula. El peso molecular de la gamma-trace es de 10.000 y su coeficiente de sedimentación de 1,5 S. En su molécula no existen enlaces disulfido. No existen propiedades químicas ni inmunológicas en común entre beta-trace, gamma-trace e IgG.

#### INTENTOS PERSONALES DE DEMOSTRACION DE PROTEINAS NO PLASMATICAS EN EL L.C.R. NORMAL

Con el fin de investigar la presencia posible de proteínas no plasmáticas en el l.c.r. normal, nos dispusimos a la obtención de un suero anti-l.c.r. humano normal.

Para ello preparamos un "pool" constituido por 100 c.c. de l.c.r. extraído a 17 sujetos admitidos como normales. A continuación procedimos a la concentración del mismo, por el método habitual, hasta dejar la cantidad inicial reducida a 10 c.c., volumen que precisábamos para la ulterior inmunización.

Esta se efectuó sobre dos conejos, con la siguiente pauta:

Primera semana: inyección subcutánea de 1 c.c. de l.c.r. más 1 c.c. de adyuvante de Freund, distribuida en cuatro puntos (ambas axilas e ingles).

Segunda semana: igual que la anterior.

Tercera semana: igual que la anterior.

Cuarta semana: igual que la anterior.

Quinta semana: inyección intraperitoneal de 1 c.c. de l.c.r., sin adyuvante de Freund.

Tres días después de la inyección intraperitoneal se procedió a la extracción de sangre de los animales, mediante punción intracardíaca y aspiración lenta.

A partir de la tercera semana de inmunización observamos la existencia de intensas adenopatías en las vecindades de los puntos de inyección.

La titulación del suero obtenido se efectuó por el "ring test", considerándose aceptable. El suero anti-l.c.r. fue conservado a la temperatura de  $-20^{\circ}$ .

A continuación procedimos a su absorción por medio de un "pool" de suero humano normal. Realizamos diluciones progresivas del suero anti-l.c.r. en el suero humano, desde la dilución 1:10 hasta la 1:2. Simultáneamente realizamos control de las diluciones del inmunosuero anti-l.c.r. Pudimos comprobar que las diluciones ópticas se encontraban en 1:4, 1:5. Elegidas estas dilu-

ciones, se mantuvieron dos horas a 37°; a continuación veinticuatro horas en reposo a la temperatura ambiente, y finalmente fueron centrifugadas con recogida de los sobrenadantes.

Estos sobrenadantes fueron puestos en presencia de suero humano normal y de l.c.r. humano normal, según la técnica de inmunodifusión radial en placas de Ouchterlony. Se observó la ausencia de bandas de precipitación frente al "pool" de suero humano normal, indicando la completa absorción de todos los anticuerpos anti-proteínas plasmáticas del l.c.r. Frente a un "pool" de l.c.r. humano normal, los sobrenadantes mostraron la *existencia de dos bandas netas de precipitación indicando la presencia de sendas proteínas, verosímilmente no plasmáticas, existentes en el l.c.r. normal.*

Los sueros de conejos anti-l.c.r. diluidos a las mismas proporciones con suero salino fisiológico, mostraron conservar su potencia presentando ante suero humano y l.c.r. las mismas bandas de precipitación que el suero anti-l.c.r. sin diluir.

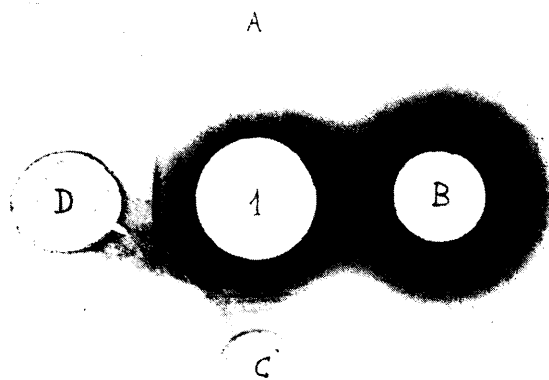


FIG. 3.—A: Suero conejo anti-l.c.r., a 1:4 absorbido. B: Suero conejo anti-l.c.r., a 1:4 no absorbido. C: Suero conejo anti-suero humano-total. D: Suero conejo anti-Igs. 1: "Pool" de suero humano-normal. Se observa en A la correcta absorción del suero anti-l.c.r., con ausencia de líneas de precipitación. En B puede verse la buena calidad precipitante del suero anti-l.c.r., previamente a su absorción. C y D sirven de controles al "pool" de suero humano.

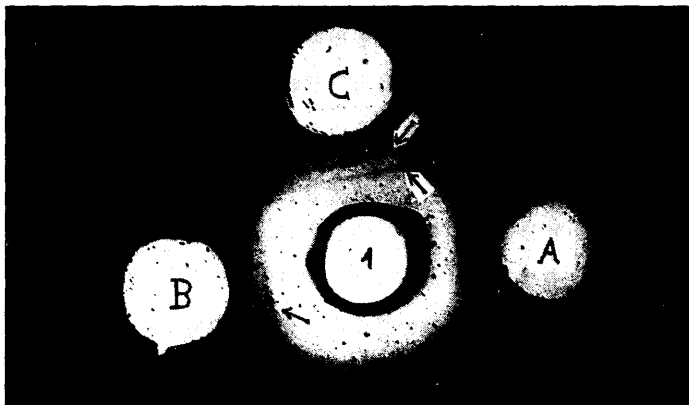


FIG. 4.—A: "Pool" de sueros humanos. B: l.c.r. normal. C: "Pool" de l.c.r. normal. 1: Suero conejo anti-l.c.r.-absorbido con "pool" de sueros humanos. Se observa la ausencia de bandas de precipitación en A, y líneas de precipitación en B y en C (flechas), correspondientes a las fracciones consideradas específicas del l.c.r.

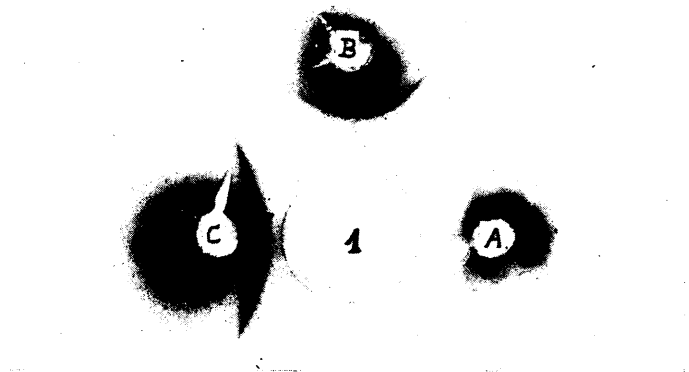


FIG. 5.—A: Suero conejo anti-l.c.r.-absorbido. B: Suero conejo anti-l.c.r.-no absorbido. C: Suero conejo anti-Igs-séricas. 1: Gammaglobulina de l.c.r. normal. Se muestra la ausencia de bandas de precipitación en A indicando que las proteínas específicas del l.c.r. normal no son gammaglobulina.



**LAS PROTEINAS DEL L.C.R. EN LA ESCLEROSIS  
MÚLTIPLE**





A partir de 1942, en que Kabat, Moore y Landow muestran la trascendental observación del aumento de gammaglobulina en el E.E.F. del líquido cerebroespinal en los enfermos de esclerosis múltiple, puede asegurarse que la historia de los modernos estudios del l.c.r. marcha paralela a esta enfermedad, cuya frecuencia y polimorfismo en su presentación clínica justifican por sí solos la búsqueda de una técnica que pueda permitir su diagnóstico o exclusión, al menos en un porcentaje elevado de casos.

Los sucesivos estudios, con la utilización de métodos progresivamente superiores y una selección más cuidadosa de los pacientes examinados, han hecho aumentar de forma manifiesta el porcentaje de positivities del l.c.r. en el diagnóstico de la esclerosis múltiple.

Bauer (1956) considera que existe un aumento de gammaglobulina en el l.c.r. de estos enfermos en el 47 por 100 de los casos. Yahr y cols. (1954) eleva esta cifra al 65,5 por 100. Goa y Tveten (1963) consideran como habitual en sus trabajos la elevación de gamma en el l.c.r. de estos enfermos. En los estudios de Lowenthal (1964) existe hipergamma en el 66 por 100. En la experiencia de Ivers y cols. (1961), la cifra se eleva al 67 por 100 y en la de Belanger y cols. (1962) al 72,1 por 100. Laterre (1965), con una amplia estadística obtiene datos positivos en el 72,7 por 100 de los casos estudiados. Bergmann (1965) encuentra una elevación significativa de gammaglobulina en el 73 por 100 de sus casos, y en otro 16 por 100 aun sin existir esta elevación, la relación gamma/beta en el l.c.r. era superior a la normal. Los porcentajes, de positivities se elevan al 88 por 100 en la experiencia de Schapira y Park (1961) y al 93 por 100 en la de Volk y cols. (1965).

Estos datos adquieren mayor trascendencia diagnóstica si se comparan con los obtenidos en diversas estadísticas por las curvas coloidales. Müller (1951) encuentra positividad por estos "test" de floculación en el 50 por 100 de enfermos de esclerosis múltiple. Por el contrario, Yahr y cols. (1954) reducen esta cifra al 35,7 por 100 de sus observaciones; e Ivers y cols. (1961), al 33 por 100. Plum (1959) admite que solamente se puede asegurar

una curva parética en estos enfermos en el 30 por 100 de los mismos. Por otra parte, Bergmann (1964-1965) llama la atención sobre la escasa fidelidad de dichos "test" en el diagnóstico de la esclerosis múltiple, habiendo encontrado con cierta frecuencia curvas patológicas en sujetos normales, y en la mayoría de estos casos, del tipo parético.

Mientras parece asentarse con absoluta seguridad el criterio de elevación de gammaglobulina en el l.c.r. de la esclerosis múltiple, una marcha inversa han llevado los estudios practicados en el suero de estos pacientes. A excepción de observaciones esporádicas citando anomalías en el E.E.F. del suero, tales como aumento de gamma (Steger, 1953), de alfa 2 y gamma (Neumayer, 1956), de alfa 2 (Saifer, 1953; Van Sande, 1957; Bronsky, 1960), es un hecho admitido la normalidad del suero en esta afección neurológica, y así lo demuestran de forma incontestable los estudios de Link (1967). Por otra parte, debe ser muy prudente la interpretación de las fracciones del suero en estos enfermos, sobre todo a la hora de realizar consideraciones de tipo estadístico, ya que es muy frecuente que estos enfermos, por sus largas permanencias encamados, en muchos de los casos, padezcan numerosas infecciones urinarias, otras asentadas sobre escaras de decúbito, etcétera, que son fácilmente origen de anomalías séricas no valorables.

Diversos autores han hecho mención de la importancia que junto al aumento porcentual de la fracción gammaglobulina, tiene la distribución de la misma. Laterre (1965) menciona "una distribución discontinua" a la que da el nombre de "oligoclonal" y que en su opinión caracteriza a la gammaglobulina de producción intratecal; en experiencia de dicho autor la gammaglobulina patológica de la esclerosis múltiple adopta una movilidad de tipo lento, si bien más rápida que la observada en la panencefalitis esclerosante subaguda. Lowenthal (1960-1964) ha dedicado buena parte de sus trabajos al estudio de la movilidad electroforética de la esclerosis múltiple, estableciendo relaciones con distintos grados de certeza diagnóstica, evolución y formas clínicas; en los casos de certeza absoluta, observa un aumento predominante de las subfracciones de movilidad gamma 2 y gamma 3; en los muy probables, el aumento es más selectivo de gamma 3 y en menor grado de gamma 4, en los casos que dicho autor denomina muy posibles el aumento se centra en subfracciones más rápidas, tales como gamma 1 y gamma 2; los considerados dudosos, muestran ligerísimas alteraciones de gamma 2 y gamma 3 las formas con disociación albúmino-citológica y las formas clínicas de neuritis retrobulbar, presentan un aumento circunscrito a la subfracción

gamma 3; y, finalmente, aquellas formas con menos de un año de evolución mostraban un ligerísimo aumento de gamma de movilidad lenta. De todos estos trabajos de Lowenthal, que a nuestro juicio no deben ser entendidos con un criterio muy riguroso, parece desprenderse un hecho más valorable: La esclerosis múltiple presenta un aumento de gammaglobulina a expensas de las subfracciones de movilidad idéntica o muy próxima a la del suero, siendo éste más evidente cuando la evolución clínica supera el año. Esta misma es la opinión de Clausen, Dencker y otros (1965), que atribuyen a la gammaglobulina de la esclerosis múltiple una migración idéntica a la del suero normal. Link (1967) observa un aumento de gammaglobulina en la esclerosis múltiple, distribuido en todas las subfracciones (desde gamma 1 hasta gamma 5), pero mientras el aumento es insignificante a nivel de gamma 1, gamma 2, gamma 3 y gamma 5, prácticamente todo el exceso de gamma-globulina viene a situarse a nivel de gamma 4 (la de movilidad similar a la del suero), en donde se pueden observar 2, 3 e incluso 4 bandas.

Los cocientes gamma l.c.r./gamma suero, y gamma l.c.r./beta l.c.r., fueron introducidos con ocasión del estudio electroforético en la esclerosis múltiple, el primero de ellos para expresar la selectividad del l.c.r. en el aumento de gammaglobulina y el segundo para mostrar la no participación en la patología del l.c.r. de la esclerosis múltiple de otras fracciones fuera de la gammaglobulina, aprovechando la constancia de la relación gamma/beta, a la que ya hemos aludido en otros apartados. Bergmann y cols. han pretendido encontrar correlaciones entre dichos cocientes y el tiempo de evolución de la enfermedad, con resultados negativos.

Una vez conocidas estas peculiaridades del l.c.r. en la esclerosis múltiple, la casi totalidad de los autores han dedicado sus esfuerzos a establecer relación entre las anomalías del aspecto del l.c.r. y las características clínicas de la afección. Según Bücher (1952), Yahr (1954) y Volk (1955), existe un paralelismo entre la gravedad de la esclerosis múltiple y el aumento de gammaglobulina. Incluso, en opinión de Yahr, la gammaglobulina desciende con los tratamientos con prednisona, y viceversa. Según Lowenthal (1964), a pesar de sus detenidos estudios ya considerados anteriormente, cree que no puede sacarse una opinión consistente. Cosgrove y Agius (1966) estudian una amplia serie de esclerosis múltiple, diagnosticada basándose en los siguientes criterios: lesiones diseminadas en el tiempo y en la distribución anatómica, y una historia de remisiones y exacerbaciones; de acuerdo con la clínica, los casos son agrupados en siete categorías: 1) crónicos-leves-estáticos. 2) Crónicos-severos-estáticos. 3) Crónicos-leves-

progresivos. 4) Crónicos-severos-progresivos. 5) Agudos-leves. 6) Agudos-severos. 7) Ataques recientes. Observan que la relación gamma l.c.r. beta l.c.r. está aumentada en el 93 por 100 de los pacientes de esclerosis múltiple, en relación con los sujetos control; que existe una elevación de gammaglobulina en un 80 por 100 de casos, y que la curva del oro coloidal es anormal en sólo el 68 por 100 de los casos, sin precisar el tipo de anormalidad de la misma. Según estos autores, la alteración en el cociente gamma/beta, y por supuesto el aumento de gamma son proporcionales a la agudeza del cuadro y a la severidad del mismo, siendo máximas las anomalías en estos datos del E.E.F. en los casos graves y agudos, seguido de los que han padecido brotes recientes, y son mínimas en los del grupo crónico-leve-estático.

Un paso adelante en los estudios clínico-laboratorio en la esclerosis múltiple lo constituye el complejo o importante trabajo de Gilland (1965), quien conjuga los criterios clínicos y los datos del l.c.r. en un intento de sistematización del diagnóstico de dicha afección desmielinizante. Como criterios clínicos de clasificación de la esclerosis múltiple acepta los establecidos por Allison (1960) aceptados por la "World Federation of Neurology", que son los siguientes: 1) Latente: pacientes con ligera o ninguna incapacidad y síntomas remitentes, con una duración inmaterial de su historia clínica. 2) Posible: algún grado de afectación neurológica, una sola lesión y curso crónico progresivo habiéndose descartado otros procesos patológicos razonables. 3) Probable: parcial o severa afectación neurológica, sólo explicable por múltiples lesiones en el S.N.C. y tendencia a la remisión. Los hallazgos del l.c.r. son clasificados en cuatro grupos, basados en las estadísticas de diversos autores. Son éstos: 1) l.c.r. típico (que no es sinónimo de específico): Elevación de gammaglobulina por debajo de tres veces el límite superior de la normalidad, incluyendo aquí los casos en que el aumento de gamma es únicamente evidente por la relación gamma/beta; normal o discretamente alta proteinorraquia; recuento de células no superior a 25/mm.c. 2) l.c.r. normal, incluido el cociente gamma/beta. 3) l.c.r. atípico: Elevación de gamma por encima de tres veces el límite superior aceptado como normal. Proteinorraquia con cifras entre dos y tres veces el límite superior de la normalidad; pleocitosis de 25 a 50/mm.c. El l.c.r. se considera atípico cuando existe una pleocitosis de este tipo, aun cuando la hipergammaglobulinorraquia sea moderada. 4) L.c.r. contradictorio: casos en los que todos los datos antes reseñados como atípicos aparecen reunidos. De este modo Gilland establece seis categorías diagnósticas para la esclerosis múltiple: a) Clínica probable +

+ l.c.r. típico. b) Clínica probable + l.c.r. normal. c) Clínica probable + l.c.r. atípico. d) Clínica latente + l.c.r. típico. e) Clínica latente + l.c.r. normal. f) Clínica posible + l.c.r. típico.

Bergmann (1965), al sistematizar el estudio del l.c.r. en la esclerosis múltiple, considera que contradice tal diagnóstico el hallazgo de una proteinorraquia superior a 75 mgs. por 100 y unas células por encima de 100 por mm.c.; y es necesario valorar con prudencia un E.E.F. de l.c.r. cuando en el suero existen alteraciones en las fracciones beta o gamma.

Es decir, en los trabajos de los distintos investigadores, quedan claras una serie de facetas, quizá las más útiles para la aplicación en la práctica clínica: en un elevado porcentaje de esclerosis múltiple existe un aumento de gammaglobulina, cuyo aspecto cuantitativo es conocido, que no tiene correlación con aumentos paralelos de esta misma fracción en el suero de tales enfermos, y que permite apoyándose en los datos clínicos establecer unas categorías de probabilidades diagnósticas ante la esclerosis múltiple.

En un plano más profundo, quedan planteados tres problemas fundamentales: 1) el aspecto cualitativo de la gammaglobulina cuantitativamente anormal de los enfermos de esclerosis múltiple. 2) Su identidad o no con la gammaglobulina del l.c.r. normal y del suero de estos mismos enfermos. 3) El origen de esta hipergammaglobulinorraquia.

Dencker (1964), por inmunolectroforesis, muestra que mientras la IgG del l.c.r. de sujetos normales presenta un trazo de precipitación de movilidad media, la IgG en los enfermos de esclerosis múltiple puede estar aumentada en su porción anódica, presenta siempre un aumento en la zona media, y en ocasiones la porción catódica muestra la existencia de una doble línea, de precipitación que denomina gamma C; en algunos casos, existe en la concavidad de la porción media del arco de precipitación de IgG una gamma extra, a la que da el nombre de gamma E.

Laterre (1965) observa en las inmunolectroforesis practicadas a l.c.r. de esclerosis múltiple una traducción de la mencionada heterogeneidad que presenta la banda de gammaglobulina en electroforesis. Dichas subfracciones modelan en el trazo de precipitación de IgG otras tantas incurvaciones. Por descontado, observa un trazo de precipitación anormalmente grueso y amplio con relación a la IgG del l.c.r. normal. En alguna ocasión encuentra una segunda línea paralela a la línea de precipitación principal, e interna con respecto a ella. La atribuye al tipo de inmuno-suero utilizado.

En los estudios de Link (1967), la IgG del suero es idéntica a la del l.c.r. normal, e idéntica asimismo a la del l.c.r. de los enfermos de esclerosis múltiple, atribuyendo cuantas diferencias morfológicas puedan mencionarse en su trazo de precipitación inmuno-electroforético, simplemente a un problema de cantidad, anormalmente elevada en la esclerosis múltiple. Este mismo autor, por reducción y alquilación de la IgG de dichos enfermos y examen posterior en glicina urea-gel electroforesis, obtiene el patrón de cadenas pesadas. Sin embargo, utilizando inmunosueros específicos anti cadenas pesadas, ligeras,  $\kappa$  y  $\lambda$ , no encuentra diferencias entre la IgG del l.c.r. normal, la del suero y la del l.c.r. de enfermos de esclerosis múltiple.

El origen plasmático de esta IgG existente en exceso en el l.c.r. de los enfermos de esclerosis múltiple, con ulterior paso al compartimiento intratecal, tiene una justificación muy difícil. Por un lado, ya hemos mencionado que es opinión unánime, por los estudios de la mayoría de los investigadores, la ausencia de elevación de gammaglobulina en el suero de dichos enfermos. Existiría, no obstante, la posibilidad de que la vida media de esta proteína en el suero fuese breve y el paso del suero al l.c.r. muy superior a la corriente opuesta. A este respecto, es importante el trabajo de Lippincott y cols. (1965) quienes inyectan gammaglobulina humana marcada con yodo 131 por vía intravenosa y por vía intratecal a pacientes con esclerosis múltiple. Observan que la vida media en l.c.r. es de 17,3 horas y en el suero es de 72,4; y que por otra parte la velocidad de paso desde el l.c.r. hacia el suero es 11,6 veces superior a la corriente inversa.

Algunos autores han demostrado la relación existente entre células plasmáticas y producción de gammaglobulina, y por ende de anticuerpos (Bing y Plum, 1937; Bjorneboe y Gormsen, 1941; Fagraeus, 1948; Ehrich, 1955). En el l.c.r. del sujeto sano no se observa presencia de células plasmáticas.

Sayk (1954-1960), Bischoff (1960-1964), Schmidt (1960-1965), apuntan la opinión de que la actividad defensiva del S.N.C. viene dada por reacciones plasmocelulares y elevación de gammaglobulina, considerando característica de brote en la esclerosis múltiple una reacción plasmocelular. Quizá para estos mismos autores el origen de la hiperexistencia de gammaglobulina en el l.c.r. de tales enfermos estaría en una elevación de células plasmáticas, lo que por otra parte no sería más que expresión de cronicidad inflamatoria en esta entidad patológica.

## ESTUDIOS PERSONALES EN LA ESCLEROSIS MULTIPLE

Hemos examinado 50 casos de esclerosis múltiple. En cada uno de ellos hemos tenido en cuenta diversos factores clínicos y de laboratorio.

En primer lugar se ha considerado la edad y sexo del paciente, así como la duración total de su sintomatología.

La evolución clínica fue considerada atendiendo especialmente a la riqueza sintomatológica, gravedad e incapacidad funcional, ocasionadas por la afección y al mismo tiempo dejando constancia de una evolución en brotes, o por el contrario estacionaria o lentamente progresiva.

Otro de los factores a valorar ha sido la localización lesional clínica, bien sea medular, vestibular, ocular, etc.

El diagnóstico clínico fue clasificado en distintas categorías, de acuerdo con los criterios de Allison (1960), modificados en nuestro trabajo, con el fin de matizar mejor formas intermedias entre unos y otros grados de probabilidad diagnóstica. Así, pues, los criterios seguidos han sido los siguientes:

- 1) E.M. Típica.—Afectación parcial o severa. Lesiones múltiples. Regresiones.
- 2) E.M. Muy probable.—Casos similares a los del tipo anterior en el grado de afectación y en la plurifocalidad lesiones, pero en cuya evolución no constaban remisiones convincentes.
- 3) E.M. Probable.—Algún grado de afectación. Lesión única. Curso crónico o progresivo. Descartados otros procesos razonables.
- 4) E.M. Posible.—Ligera o ninguna incapacidad. Síntomas remitentes. Duración inmaterial de la historia clínica.

En el examen clásico del l.c.r. se tuvieron en consideración el recuento celular, la proteinorraquia total, la reacción de Pandy, la curva de oro coloidal. A través de estos datos se estimaron cuatro categorías:

- a) L.C.R. Típico.—Menos de 25 células por mm.c. Cifra de proteinorraquia interior al triple del valor superior normal. Franca desviación de la curva hacia la izquierda.
- b) L.C.R. Posible.—Proteinorraquia y recuento celular con las mismas características que en el tipo anterior, pero con una curva débilmente desviada a la izquierda, o con una floculación inespecífica en los tubos centrales.
- c) L.C.R. Normal.



d) L.C.R. Atípico.—Cualquiera de los siguientes caracteres o varios de ellos reunidos: Más de 25 células por mm.c. Elevación de la proteinorraquia por encima de tres veces la cifra superior de la normalidad. Disociación albuminocitológica. Curva con franca desviación hacia la derecha de tipo meningítico.

En cada caso estudiado se practicó la separación electroforética de las proteínas del l.c.r. según nuestra técnica habitual, y se consideraron las cifras porcentuales de las fracciones, la relación entre el valor en tantos por ciento de gammaglobulina y beta-globulinas, la movilidad electroforética de la gammaglobulina, y finalmente el cociente entre alfa 2 y alfa 1. Esta última relación tenía como finalidad el descartar la existencia en cualquiera de los casos de un inespecífico aumento de la permeabilidad de la B.H.E.

Del mismo modo se realizó un estudio electroforético en estos mismos enfermos de las proteínas del suero, considerando los valores porcentuales de las fracciones, y el cociente gamma suero gamma l.c.r. También se determinó la cifra total de proteínas séricas.



FIG. 6.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 1, Esclerosis múltiple.

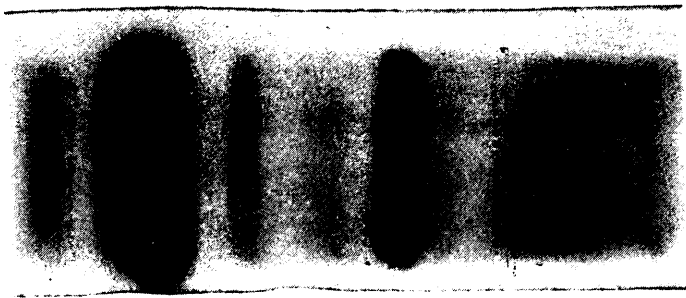


FIG. 7.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 5, Esclerosis múltiple.



FIG. 8.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 12, Esclerosis múltiple.

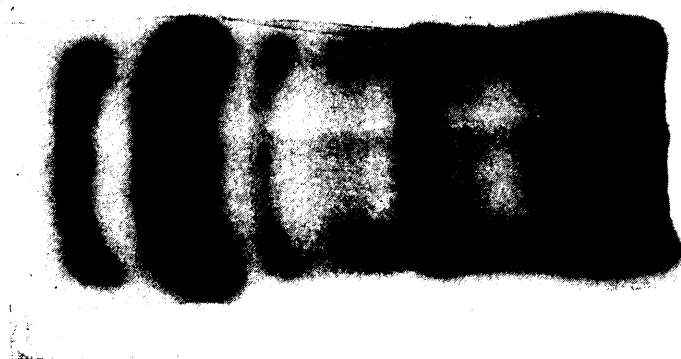


FIG. 9.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 15, Esclerosis múltiple.

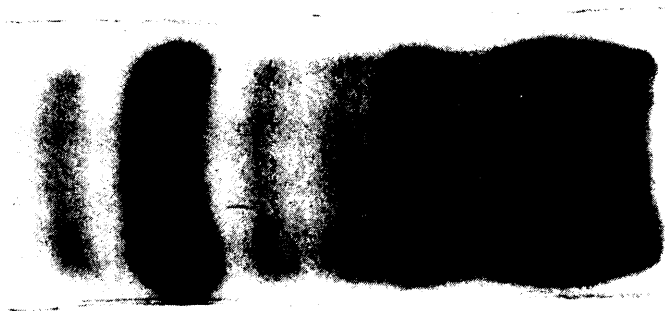


FIG. 10.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 16, Esclerosis múltiple.



FIG. 11.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 18, Esclerosis múltiple.

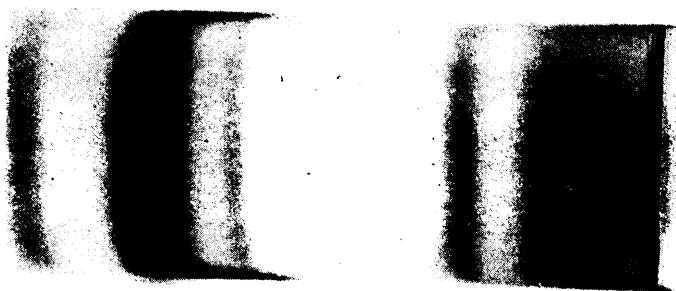


FIG. 12.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 19, Esclerosis múltiple.

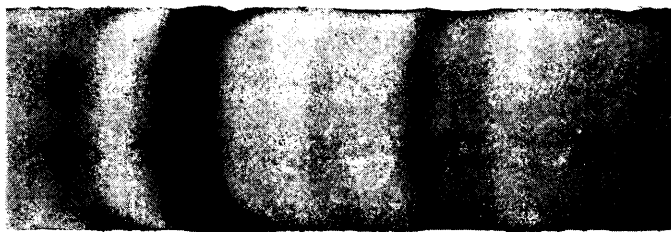


FIG. 13.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 20, Esclerosis múltiple.

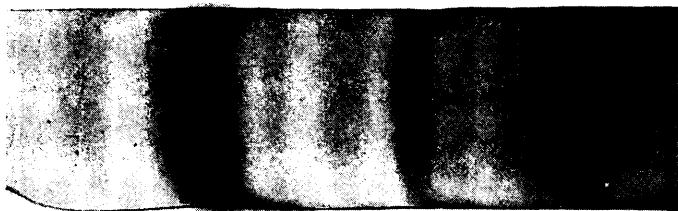


FIG. 14.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 22, Esclerosis múltiple.

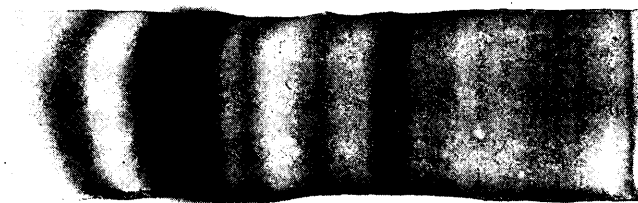


FIG. 15.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 23, Esclerosis múltiple.

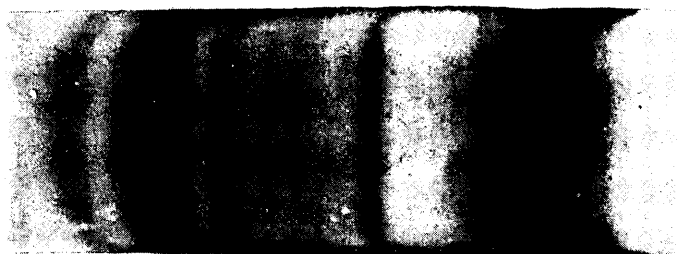


FIG. 16.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 24, Esclerosis múltiple.

CUADRO 1

## DATOS CLINICOS EN NUESTROS 50 PACIENTES DE ESCLEROSIS MULTIPLE

Caso	Nombre	Edad	Sexo	Tiempo evolucion.	Tipo de evolución	Fase estudio	Localización lesional	Categoría clínica
1	R.E.L.	45	V	3 años	5 brotes. 1 regresión dudosa.	C.S.E.	M.O.C.	MUY PROBABLE.
2	R.G.G.	34	H	2 años	4 brotes. 3 remisiones.	Ataque reciente	M.B.O.C.	TÍPICA.
3	H.A.C.	31	V	4 años	5 brotes y remisiones.	C.L.E.	M.	POSIBLE.
4	C.E.Z.	39	H	19 años	2 brotes. 1 remisión completa.	C.S.E.	M.O.	TÍPICA.
5	R.V.A.	38	V	4 años	No brotes convincentes.	C.L.E.	M.C.	PROBABLE.
6	D.M.C.	35	V	12 años	2 brotes. 2 regresiones.	Ataque reciente	T.	PROBABLE.
7	C.L.M.	40	H	21 meses	4 brotes sin regresiones.	C.L.P.	M.	PROBABLE.
8	J.G.M.	24	V	4 años	3 brotes sin remisiones.	C.S.P.	C.M.	MUY PROBABLE.
9	A.M.G.	44	V	22 meses	2 brotes. 1 regresión dudosa.	C.S.E.	M.	PROBABLE.
10	M.G.B.	41	H	3 años	3 brotes sin regresiones.	C.S.E.	C.M.	MUY PROBABLE.
11	A.L.S.	21	V	17 meses	2 brotes. 2 regresiones completas.	Asintomático	M.O.C.	TÍPICA.
12	A.R.G.	46	H	3 años	1 brote. 1 regresión parcial.	C.S.E.	M.O.	TÍPICA.
13	A.F.V.	53	V	21 años	No brotes convincentes.	C.S.E.	M.	PROBABLE.
14	S.A.R.	50	V	10 años	4 brotes. 3 regresiones.	C.S.E.	M.O.C.	TÍPICA.

FASE ESTUDIO.—C: crónico  
S: severo  
E: estático  
L: leve  
P: progresivo

LOCALIZACION LESIONAL.—M: medular  
O: ocular  
C: cerebeloso  
T: troncular  
B: bulbar

CUADRO 1 (Continuación)

Caso	Nombre	Edad	Sexo	Tiempo evolucion.	Tipo de evolución	Fase estudio	Localización lesional	Categoría clínica
15	B.C.V.	49	H	2 años	2 brotes. 1 regresión dudosa.	C.S.E.	M.O.C.	MUY PROBABLE.
16	D.V.R.	29	H	2 años	2 brotes. No remisiones.	C.S.E.	M.O.C.B.	MUY PROBABLE.
17	D.S.U.	47	H	19 años	5 brotes. 5 remisiones parciales.	C.S.P.	M.C.	TÍPICA.
18	L.I.M.	26	H	1 año	2 brotes. 1 remisión.	C.S.E.	M.	MUY PROBABLE.
19	J.M.L.	43	H	3 años	3 brotes. 2 remisiones.	C.S.E.	M.O.C.	TÍPICA
20	G.A.D.	36	V	8 años	3 brotes. 2 remisiones.	C.S.E.	M.O.C.	TÍPICA.
21	M.A.G.	43	H	20 años	2 brotes. 1 regresión total.	C.S.E.	M.O.C.	TÍPICA.
22	A.G.T.	41	H	2 años	3 brotes. 2 regresiones dudosas.	C.S.E.	M.C.	MUY PROBABLE.
23	J.S.O.	37	V	11 años	4 brotes. 3 regresiones.	C.S.P.	M.O.C.	TÍPICA.
24	L.A.S.	29	H	6 años	1 brote. 1 regresión.	C.L.E.	M.C.	TÍPICA.
25	V.B.R.	41	H	10 años	4 brotes. 3 regresiones.	C.S.E.	M.	MUY PROBABLE.
26	A.L.G.	21	V	3 años	2 brotes. 1 remisión.	C.S.P.	M.C.	TÍPICA.
27	A.A.N.	34	V	2 años	4 brotes. 3 remisiones.	C.S.E.	M.O.C.	TÍPICA.
28	D.R.G.	45	V	26 años	1 brote. 2 regresiones.	C.S.P.	M.C.	MUY PROBABLE.
29	I.I.O.	20	H	2 años	1 brote. 1 regresión.	C.L.E.	M.C.	TÍPICA.
30	M.F.R.	40	V	6 años	2 brotes. 1 regresión.	C.S.P.	M.O.C.	TÍPICA.
31	F.Y.N.	20	H	1 año	3 brotes. 2 remisiones.	C.S.P.	M.T.C.	TÍPICA.
32	M.B.J.	42	V	2 años	No brotes convincentes.	C.L.P.	M.	PROBABLE.
33	F.F.G.	46	V	2 años	3 brotes. 2 remisiones dudosas.	C.S.P.	M.	PROBABLE.



CUADRO 1 (Continuación)

Caso	Nombre	Edad	Sexo	Tiempo evolucion.	Tipo de evolución	Fase estudio	Localización lesional	Categoría clínica
34	P.C.M.	17	H	4 años	4 brotes. 3 remisiones.	C.S.P.	M.O.C.	TÍPICA.
35	E.P.C.	43	V	12 años	No brotes convincentes.	C.S.E.	M.C.	MUY PROBABLE.
36	G.F.F.	45	V	8 años	2 brotes. 1 remisión.	C.S.P.	M.C.	TÍPICA.
37	A.G.M.	58	H	7 años	1 brote dudoso. 1 remisión total.	Asintomático	T.	POSIBLE.
38	J.R.C.	43	V	6 años	2 brotes. 2 remisiones.	C.L.E.	M.C.	TÍPICA.
39	S.D.A.	32	V	10 años	3 brotes. 3 remisiones.	C.S.E.	M.C.	TÍPICA.
40	M.S.A.	32	V	2 años	4 brotes dudosos. 4 remisiones.	C.S.P.	Cerebral C.	POSIBLE.
41	J.M.F.	23	V	5 años	2 brotes. 2 remisiones.	C.S.E.	M.C.	TÍPICA.
42	J.C.L.I.	40	V	5 años	1 brote. Dudosa remisión.	C.L.P.	M.C.	MUY PROBABLE.
43	M.C.I.	39	V	6 años	3 brotes. Dudosas remisiones.	C.S.P.	M.	PROBABLE.
44	A.A.B.	59	H	6 años	No brotes convincentes.	C.S.E.	M.C.	MUY PROBABLE.
45	A.B.A.	46	H	12 años	4 brotes. 3 remisiones.	C.S.P.	M.C.	TÍPICA.
46	E.P.L.	36	H	4 años	No brotes convincentes.	C.S.E.	Cerebral	MUY PROBABLE.
47	C.G.R.	41	H	10 años	3 brotes. Remisiones parciales.	C.S.E.	M.C.	TÍPICA.
48	J.M.M.	29	V	5 años	2 brotes. Remisiones parciales.	C.S.P.	M.C.	TÍPICA.
49	M.P.F.	38	H	1 mes	1 brote.	Ataque agudo	M.C.	MUY PROBABLE.
50	C.P.G.	46	H	?	3 brotes. Dudosas remisiones.	C.S.E.	M.C.	MUY PROBABLE.

CUADRO 2

## EXAMEN CLASICO L.C.R. EN 50 CASOS DE ESCLEROSIS MULTIPLE

Caso	Proteínas mgs. %	Células mm.c.	Pandy	Oro Coloidal	V.D.R.L.	Categoría diagnóstico
1	26	1	+	0001111111	—	ATIPICO.
2	22	1	—	0000000000	—	NORMAL.
3	30	7	+	0000011000	—	INESPECIFICO.
4	38	3	+	0000111221	—	ATIPICO.
5	24	4	+	1112222210	—	POSIBLE.
6	38	11	++	0001222110	—	POSIBLE.
7	1.º 29	1.º 3	++	0002211100	—	POSIBLE.
	2.º 28	2.º 4	—	0122233210	—	POSIBLE.
8	27	1	—	4555322110	—	TIPICO.
9	20	2	+	2233322110	—	TIPICO.
10	17,5	3	+	1221100000		TIPICO.
11	1.º 25	2	+	0111221000	—	POSIBLE.
	2.º 13	1	—	0000001111	—	ATIPICO.
12	42	1	++	4443332211	—	TIPICO.
13	37	1	++	1122211100	—	TIPICO.
14	18	4	—	0112221000	—	POSIBLE.
15	34	3	++	5554433221	—	TIPICO.
16	34	7	++	4444332100	—	TIPICO.
17	42	1		1111211100		POSIBLE.
18	29	2	+	3322211100	—	TIPICO.
19	31,5	2	+	1322221000	—	TIPICO.
20	17	3			—	?
21	33	1	+	4432222110	—	TIPICO.
22	56	2	+++	5544322100	—	TIPICO.
23	25	5	+	0001100000	—	NORMAL.
24	37,5	3	++	4321100000	—	TIPICO.
25	19,5	4	+	0011000000	—	NORMAL.
26	38	11	+	0000121100	—	POSIBLE.
27	36	7		5432221100	—	TIPICO.

CUADRO 2 (Continuación)

Caso	Proteínas mgs. %	Células mm.c.	Pandy	Oro Coloidal	V.D.R.L.	Categoría diagnóstico
28	1.º 54 2.º 50	6 11	+ ++	0001122210 0000112110	— —	POSIBLE. ATIPICO.
29	18,5					?
30	43	7	+	5432211000	—	TIPICO.
31	35	5	++	4432211000	—	TIPICO.
32	30	5	—	0122221100	—	POSIBLE.
33	38	23	+	0000121100	—	POSIBLE.
34	1.º 10 2.º 16	3 15	+ +	3322211100 5433221100	— —	TIPICO. TIPICO.
35	1.º 23 2.º 17	1 1	— —	0000110000 3322210000	— —	NORMAL. TIPICO.
36	27,8	1	+	4332221111	—	TIPICO.
37	22			0001110000		NORMAL.
38	1.º 22,5 2.º 24	5 1	— +	0112100000 3322221100	— —	TIPICO. TIPICO.
39	1.º 16 2.º 18	6 1	— —	1122211000 2222111000	— —	TIPICO. TIPICO.
40	1.º 24 2.º 26	2 5	+			? ?
41	1.º 33 2.º 21	9 3	+ +	0001100000 0011221110	— —	POSIBLE. POSIBLE.
42	46	2	+	5554321000	—	TIPICO.
43	1.º 35 2.º 29	2 5	++ +	0001222211 3322111000	— —	ATIPICO. ATIPICO.
44	51	5	+	5555433221	—	TIPICO.
45	48	3	+	5555321100	—	TIPICO.
46	21	1	—	5433222110		TIPICO.
47	29					?
48	25,5			3332210000		TIPICO.
49						?
50	17			3322222100		TIPICO.

CUADRO 3

VALORES PORCENTUALES DEL E.E.F. EN EL L.C.R., OBTENIDOS  
EN 50 CASOS DE ESCLEROSIS MULTIPLE

Caso	Prealb.	Albúm.	Alfa 1	Alfa 2	Betas	Gamma	$\gamma/\beta$	$\alpha_2/\alpha_1$
1	8,49	46,28	5,84	7,85	15,70	15,71	1	1,32
2	5,00	54,09	7,727	8,18	14,09	19,090	8,081	1,07
3	4,47	52,59	3,75	4,11	16,81	18,24	1,08	1,09
4	9,92	36,623	8,883	5,454	19,869	21,948	1,10	0,79
5	5,63	47,67	5,63	7,18	15,72	18,05	1,14	1,97
6	1.º 5,80	52,28	7,46	5,39	18,67	10,37	0,55	0,72
	2.º 5,20	58,40	4,40	5,20	15,60	11,20	0,71	1,18
7	1.º 3,05	56,13	4,15	4,47	16,06	16,10	1,002	1,07
	2.º 4,29	59,14	2,62	5,54	11,25	17,12	1,52	2,11
8	3,29	57,98	1,79	3,68	11,71	21,52	1,83	2,05
9	1.º 6,04	44,96	4,69	6,04	16,10	22,14	1,37	1,28
	2.º 3,05	62,89	1,27	3,84	11,69	17,23	1,47	3,02
10	5,53	56,26	2,70	3,27	9,18	23,03	2,50	1,20
11	5,61	61,23	2,50	3,11	23,43	14,84	0,63	1,24
12	5,36	42,89	5,36	6,29	14,67	25,40	1,73	1,17
13	4,64	50,04	5,72	6,08	16,29	17,19	1,05	1,06
14	6	59	4	5	14	12	0,85	1,25
15	6,04	37,04	3,81	5,30	14,31	33,47	2,33	1,39
16	3,69	33,21	4,05	5,53	11,06	42,43	3,83	1,36
17	1,99	69,95	2,07	5,00	7,03	13,96	1,98	2,41
18	6,08	47,30	3,04	3,74	16,85	22,94	1,35	1,23
19	3,91	49,75	4,07	4,73	11,41	26,10	2,28	1,16
20	8,43	53,59	1,73	4,46	15,37	16,37	1,06	2,57
21	1,65	67,12	1,95	3,13	9,77	16,43	1,68	1,60
22	1,26	43,88	1,54	4,54	12,37	36,28	2,93	3,01
23	3,27	73,77	1,91	3,27	11,19	6,55	0,58	1,71
24	5,09	48,25	3,75	6,43	9,91	26,54	2,67	1,71
25	4,13	62,173	2,608	5,608	9,781	15,434	1,57	2,25

CUADRO 3 (Continuación)

Caso	Prealb.	Albúm.	Alfa 1	Alfa 2	Betas	Gamma	$\gamma/\beta$	$x_2/x_1$
26	3,46	45,58	4,33	8,65	11,78	26,16	2,22	1,99
27	5,37	47,92	3,66	1,22	8,30	33,49	4,02	0,33
28	1.º 5,06	58,86	5,69	6,96	13,29	10,12	0,76	1,22
	2.º 4,24	56,60	5,42	4,24	18,15	11,32	0,62	0,78
29	8,59	48,43	5,98	8,86	14,31	12,63	0,96	1,47
30	2,17	42,17	3,68	6,18	15,11	30,66	2,02	1,67
31	3,74	41,22	2,56	6,50	8,07	37,83	4,68	2,53
32	3,61	52,28	4,81	4,09	15,17	19,99	1,31	0,85
33	4,81	52,61	6,42	8,22	14,25	13,65	0,95	1,28
34	9,86	39,47	4,64	5,66	11,31	29,02	2,56	1,21
35	1.º 6,19	59,83	4,85	—	16,97	12,12	0,71	—
	2.º 6,18	54,12	4,63	3,60	13,39	18,04	1,34	0,77
36	5,41	38,74	6,93	4,56	13,52	30,79	2,27	0,65
37	6,70	50,67	4,02	10,72	17,42	10,45	0,6	2,66
38	6,64	45,11	4,10	7,22	14,64	22,26	1,52	1,76
39	1.º 5,11	51,18	5,90	9,84	9,05	18,89	2,08	1,66
	2.º 11,65	45,73	4,03	6,72	14,11	17,71	1,25	1,66
40	1.º 5,14	52,18	4,37	10,02	13,11	15,16	1,15	2,29
	2.º 6,45	55,42	5,27	11,13	9,67	12,00	1,24	2,11
41	1.º 7,86	41,57	7,30	5,05	21,90	16,29	0,743	0,69
	2.º 7,40	48,76	4,36	6,83	13,65	18,96	1,38	1,56
42	2,82	34,87	4,61	1,53	9,74	46,41	4,76	0,33
43	7,43	45,40	5,67	9,39	15,26	16,81	1,10	1,65
44	2,76	40,90	3,35	4,34	8,29	40,31	4,85	1,29
45	0,71	34,16	2,84	3,91	7,11	51,24	7,20	1,30
46	6,92	39,15	4,36	6,32	12,07	31,16	2,58	1,44
47	2,97	55,11	3,30	4,95	10,23	23,43	2,29	1,5
48	5,094	53,018	11,132	2,783	10,754	17,098	1,59	0,25
49	8,75	50,36	4,01	4,74	16,04	16,05	1,00	1,18
50	8,55	51,91	3,24	3,53	12,37	20,35	1,64	1,09

CUADRO 4

VALORES PORCENTUALES DEL E.E.F. EN EL SUERO, OBTENIDOS  
EN 50 CASOS DE ESCLEROSIS MULTIPLE

Caso	Albúmina	Alfa 1	Alfa 2	Betas	Gamma	$\gamma$ l.c.r./ $\gamma$ ser.
1	48,93	7,94	11,17	14,89	17,55	0,89
2	59,41	4,70	8,82	12,94	14,11	0,77
3	62,03	4,62	6,48	12,96	13,88	1,31
4	60,71	4,08	8,12	10,20	16,83	1,30
5	59,44	4,14	7,83	9,21	19,35	0,94
6	48,70	5,84	11,68	18,18	15,58	0,66
7	61,83	4,34	5,31	10,62	7,87	0,89
8	53,11	3,61	8,63	10,93	23,68	0,90
9	58,53	3,90	8,78	8,78	20,00	1,107
10	50,96	4,32	9,61	14,42	20,67	1,11
11	55,41	3,18	12,10	13,37	15,92	0,93
12	37,83	7,02	12,43	14,05	28,64	0,88
13	61,17	4,11	6,47	10,00	18,23	0,94
14	58,90	4,56	8,21	12,78	15,52	0,77
15	67,46	3,17	4,76	6,34	18,25	1,83
16	59,85	5,63	7,04	10,56	16,90	2,51
17	—	—	—	—	—	—
18	57,89	3,68	7,36	11,57	19,14	0,82
19	52,97	5,40	10,27	11,89	19,45	1,34
20	60,09	3,44	9,35	10,34	16,74	0,97
21	—	—	—	—	—	—
22	57,39	4,93	7,17	18,90	16,59	2,18
23	52,57	3,03	9,09	15,15	20,45	0,32
24	64,64	3,86	6,62	11,04	13,81	1,92
25	60,09	4,36	8,27	10,91	16,34	0,94
26	64,62	3,93	11,79	9,17	10,48	2,49

CUADRO 4 (Continuación)

Caso	Albúmina	Alfa 1	Alfa 2	Betas	Gamma	$\gamma$ l.c.r./ $\gamma$ ser.
27	---	---	---	---	---	---
28	---	---	---	---	---	---
29	---	---	---	---	---	---
30	58,97	4,61	9,74	11,79	14,87	2,06
31	49,65	4,86	11,80	13,19	20,48	1,84
32	---	---	---	---	---	---
33	---	---	---	---	---	---
34	65,10	4,68	6,77	9,89	13,54	2,14
35	60,16	3,38	7,62	13,55	15,25	1,18
36	48,88	5,22	10,82	14,92	20,14	1,52
37	56,94	6,01	7,87	15,27	13,88	0,75
38	65,18	3,64	5,66	10,52	14,97	1,48
39	1.º 51,70	6,82	11,21	13,17	17,07	1,10
	2.º 55,14	7,89	9,64	11,84	14,47	1,22
40	52,30	4,39	11,29	12,11	19,87	0,59
41	1.º 52,76	6,13	9,20	12,88	19,01	0,85
	2.º 55,60	4,93	10,76	11,65	17,04	1,11
42	65,72	2,82	5,24	9,67	16,53	2,80
43	65,05	4,30	6,98	9,67	13,97	1,20
44	58,21	2,34	7,98	11,73	19,71	2
45	42,85	5,71	13,57	16,42	21,42	2,39
46	61,06	5,30	9,29	8,48	15,84	2,01
47	---	---	---	---	---	---
48	---	---	---	---	---	---
49	---	---	---	---	---	---
50	---	---	---	---	---	---

## INTENTOS PERSONALES DE DEMOSTRACION DE PROTEINAS PECULIARES EN EL L.C.R. DE LA ESCLEROSIS MULTIPLE

Una faceta de nuestro trabajo consistió en la búsqueda en el l.c.r. de enfermos de esclerosis múltiple de proteínas específicas de dicha enfermedad que no existiesen por tanto en el l.c.r. normal.

Preparamos un "pool" de 120 c.c. de l.c.r. de los enfermos correspondientes a los casos, 1, 2, 3, 7, 9, 12, 15, 16, 17 y 19. Se concentró, y se procedió a la inmunización de conejos, a la dosis de 3 mgs. de proteínas por inyección. La técnica de inmunización fue la ya expuesta en el apartado correspondiente a las proteínas no plasmáticas del l.c.r. A diferencia de lo hecho en aquella ocasión, esta vez la inmunización fue acompañada de pequeñas sangrías, lo que nos permitió la obtención de una variada gama de sueros paralelamente a la producción de anticuerpos por el animal. Sucesivamente obtuvimos suero anti-prealbúmina, suero anti-prealbúmina e inmunoglobulinas, etc., hasta sacrificar a los animales con la obtención de un anti-l.c.r. completo, en este caso de esclerosis múltiple. (Producto A.)

Por otra parte, mediante una columna de DEAE-celulosa, conseguimos privar a un "pool" de suero humano de la fracción IgG. (Producto B.)

Ambos productos, B y A, respectivamente, se pusieron en contacto a la dilución 1:7. Esta mezcla se conservó durante dos horas a 37° y 24 horas en reposo en nevera; a continuación se centrifugó y se decantó. El sobrenadante, por tanto, era un suero anti-IgG de l.c.r. de esclerosis múltiple. Preferimos trabajar exclusivamente con dicha fracción, "caballo de batalla" de esta enfermedad.

El sobrenadante obtenido se mezcló con un "pool" de l.c.r. normal concentrado (producto C), igualmente a la dilución  $C/B = 1/7$ , se incubó, se mantuvo en reposo y se centrifugó. De esta forma quedaba eliminado lo que de común pudieran tener ambas IgG, del l.c.r. normal y del l.c.r. de la esclerosis múltiple.

Finalmente, el sobrenadante de esta última mezcla se puso en contacto con el "pool" del l.c.r. de los enfermos de esclerosis múltiple que habían sido utilizados para estas experiencias. No se observó la existencia de ninguna banda de precipitación en la inmunoelectroforesis habitual ni en las placas de Ouchterlony.

Llegamos, por tanto, a la conclusión de que al menos con estas técnicas inmunológicas no es posible establecer diferencias cualitativas entre la IgG del l.c.r. normal y la del enfermo de esclerosis múltiple.



## INVESTIGACION DE PROTEINAS NO PLASMATICAS EN EL L.C.R. DE ENFERMOS DE ESCLEROSIS MULTIPLE

En colaboración con Kreisler, realizamos este trabajo, siendo la finalidad del mismo la observación de las proteínas no plasmáticas encontradas por nosotros en el l.c.r. normal, ahora en el l.c.r. de los enfermos de esclerosis múltiple.

Preparamos un "pool" de sueros humanos integrado por 100 muestras de sueros procedentes de individuos normales y de sujetos enfermos, dando en éstos preferencia a quienes mostraban disproteinemias.

A continuación procedimos a la absorción con dicho "pool" de suero del suero de conejo anti-l.c.r. de enfermos con esclerosis múltiple, que ya poseíamos.

La proporción óptima para esta absorción resultó ser la 1:4, es decir, 3 c.c. de suero de conejo anti-l.c.r. de E.M. con 1 c.c. de "pool" de suero humano.

El sobrenadante, con la técnica de Ouchterlony, mostró no poseer ninguna banda de precipitación frente al "pool" de suero humano, indicando su correcta absorción. Por otra parte, frente a un "pool" de l.c.r. de enfermos de esclerosis múltiple mostró la presencia de dos bandas de precipitación idénticas a las encontradas en el l.c.r. normal.

Por tanto, en el l.c.r. de enfermos de esclerosis múltiple hemos podido demostrar la existencia de dos proteínas, verosíblemente no plasmáticas, similares a las encontradas en el l.c.r. de los sujetos normales.

## OBSERVACIONES EN NUESTRA SERIE DE ESCLEROSIS MULTIPLE

Hemos realizado el estudio de 50 casos de esclerosis múltiple, 26 de los cuales eran varones y los 24 restantes eran hembras.

La edad media de comienzo de su sintomatología en nuestros pacientes fue de treinta y siete años, teniendo el más joven diecisiete, y el de mayor edad, cincuenta y nueve.

Todos ellos, menos uno (caso 49) llevaban más de un año desde el comienzo de su sintomatología.

En la valoración de los resultados obtenidos a través de la curva de oro coloidal hemos establecido las siguientes categorías de acuerdo con lo significativo de las mismas en relación al pre-

sunto diagnóstico clínico: a) muy positivo. b) dudosamente positivo. c) normal o inespecífico. d) atípico.

Hemos valorado también nuestros resultados globales de electroforesis en el l.c.r., con las mismas categorías, considerando “dudosamente positivos” aquellos casos en los que el aumento de gammaglobulina sólo era evidente a través del cociente de Bergmann.

La curva de oro coloidal fue estudiada en 46 enfermos:

Muy positivo ... ..	26 casos
Dudosamente positivo... ..	7 casos
Normal o inespecífico ... ..	7 casos
Atípico ... ..	3 casos

En seis enfermos el examen fue practicado dos veces, siendo del mismo grupo que la primera vez en tres casos, y obteniéndose resultados distintos en otros tres, que fueron los siguientes:

Caso 41.—Primer examen “Normal”.—2.º (seis meses después) “Dudosamente positivo”.

Caso 43.—Primer examen “Atípico”.—2.º (once meses después) “Muy positivo”.

Caso 35.—Primer examen “Normal”.—2.º (seis meses después) “Muy positivo”.

En total la curva de oro coloidal fue estudiada en 46 de nuestros enfermos, en un número global de 52 ocasiones, con los siguientes resultados:

Muy positivo ... ..	30 veces	...	Aprox. 57 %
Dudosamente positivo ... ..	8 veces	...	” 15 %
Normal o inespecífico... ..	9 veces	...	” 17 %
Atípico ... ..	5 veces	...	” 9 %

El E.E.F. del l.c.r. fue estudiado en nuestros 50 enfermos:

Muy positivo ... ..	40 casos
Dudosamente positivo... ..	1 caso
Normal o inespecífico ... ..	7 casos
Atípico ... ..	0 casos

En cinco enfermos el examen fue practicado dos veces, siendo de la misma categoría diagnóstica en tres casos, y obteniéndose resultados distintos en dos, que fueron los siguientes:

Caso 41.—Primer examen “Normal”.—Segundo “Muy positivo”.

Caso 35.—Primer examen “Normal”.—Segundo “Muy positivo”.

En total, el E.E.F. del l.c.r. fue estudiado en 50 enfermos, en un número global de 55 ocasiones, con los siguientes resultados:

Muy positivo ... ..	45 veces	...	Aprox. 81 %
Dudosamente positivo...	1 vez	...	” 2 %
Normal o inespecífico ... ..	9 veces	...	” 16 %
Atípico ... ..	0 veces	...	” 0 %

La superioridad del E.E.F. sobre la curva de oro coloidal está basada en:

- 1) Cifra mucho más elevada de francas positividades.
- 2) Ausencia de resultados atípicos.
- 3) Menor número de casos dudosamente positivos, que en la mayoría de las ocasiones sirven para mantener un interrogante más en un difícil diagnóstico.

Nunca en un mismo examen de l.c.r. fue positivo el oro coloidal y negativo el E.E.F.

Fue negativo el E.E.F. en una o más ocasiones en los siguientes casos:

- Caso 2.—Clínica típica.—Brote tronco.—Negativo.
- Caso 6.—Clínica probable.—Brote tronco.—Negativo 2 veces.
- Caso 11.—Clínica típica.—Curado totalmente.—Negativo.
- Caso 23.—Clínica típica.—Crónico evolutivo.—Negativo.
- Caso 28.—Clínica muy probable.—Crónico evolutivo.—Negativo.
- Caso 35.—Clínica muy probable.—Crónico estacionario.—1.º negativo, 2.º muy positivo.
- Caso 37.—Clínica posible.—Brote dudoso.—Negativo.
- Caso 41.—Clínica típica.—Crónico progresivo.—1.º negativo, 2.º muy positivo.

*No se observa relación entre el tiempo de evolución y la cantidad de gammaglobulina, ni el tipo de movilidad de la misma en el l.c.r.*

*No se observa relación entre la cantidad de gammaglobulina y el número de brotes o localización lesional.*

*No se observa relación entre la frecuencia de aparición de las subfracciones gammaglobulinicas y la categoría clínica de diagnóstico o la cantidad de gammaglobulina existente en el l.c.r.*

Se observa un *progresivo aumento de la relación de Bergmann, conforme la garantía del diagnóstico es más evidente*, siendo esta relación de 1,04 en las formas posibles, de 1,25 en las probables, de 1,53 en las muy probables y de 2,36 en las formas típicas.

Hemos estudiado en 48 de nuestros enfermos de esclerosis múltiple la movilidad relativa de su gammaglobulina en el E.E.F. del l.c.r. Para ello hemos aceptado la nomenclatura de Lowenthal (desde gamma 0 hasta gamma 5), concediéndoles las siguientes movilidades:

Gamma 0	...	0,279
Gamma 1	...	0,225
Gamma 2	...	0,133
Gamma 3	...	0,055
Gamma 4	...	0,034
Gamma 5	...	0,000

Con esta finalidad estudiamos en nuestros casos admitidos como normales, la frecuencia de aparición de las citadas movilidades de gammaglobulina obteniendo los siguientes porcentajes:

Gamma 0	...	30 %
Gamma 1	...	30 %
Gamma 2	...	65 %
Gamma 3	...	75 %
Gamma 4	...	30 %
Gamma 5	...	0 %

La frecuencia de aparición de cada una de las subfracciones de gammaglobulina en los enfermos de esclerosis múltiple ha sido la siguiente:

Gamma 0	...	15 casos	...	Aprox. 31 %
Gamma 1	...	17 "	...	" 35 %
Gamma 2	...	38 "	...	" 79 %
Gamma 3	...	38 "	...	" 79 %
Gamma 4	...	17 "	...	" 35 %
Gamma 5	...	8 "	...	" 17 %

De estos valores se desprende que *la gammaglobulina en la esclerosis múltiple estudiada a través del E.E.F. del l.c.r. tiene una movilidad relativa predominantemente de tipo medio, como en los casos normales, pero con mayor tendencia a la aparición de subfracciones lentas.*

*El E.E.F. de las proteínas del suero* se practicó en 39 de los enfermos, con un total de 41 exámenes, ya que fue repetido en los casos 39 y 41. Llamamos la atención exclusivamente las siguientes anormalidades: a) Caso 12, moderada elevación de gamma, siendo la relación gamma l.c.r./gamma ser. de 0,88, inferior a lo que podría pensarse tras la gran elevación porcentual de gamma en l.c.r. b) Caso 37, moderado descenso de gamma. En este caso, aun siendo negativo el E.E.F. del l.c.r., la relación gamma l.c.r./gamma ser. era de 0,752, en el límite superior aceptado como normal por Bergmann. c) Caso 40, la relación gamma l.c.r./gamma ser. fue de 0,59, sin estar la gamma sérica por encima del valor normal. Ello era debido a que la patología del E.E.F. del l.c.r. de este caso era más evidente por la relación gamma/l.c.r./beta l.c.r. que por el aumento de gamma l.c.r. d) Caso 41, la relación gamma l.c.r./gamma ser. era en su primer examen de 0,85, siendo normal la relación gamma l.c.r./beta l.c.r. por haber un gran aumento de beta 2 en su l.c.r. En un segundo examen, este aumento de beta 2 había desaparecido y la relación Bergmann en l.c.r. fue de 1,38, y entre l.c.r. y suero de 1,11. e) Caso 11, siendo negativo el E.E.F. en l.c.r., la relación gamma l.c.r./gamma ser. fue de 0,93.

Por otra parte, la obtención de un suero de conejo-anti-l.c.r. de esclerosis múltiple, y su puesta en contacto con un "pool" de suero humano privado de la fracción IgG, nos permitió contar con un suero anti-IgG de l.c.r. de esclerosis múltiple. Este suero fue absorbido con un "pool" de l.c.r. de sujetos normales, y su puesta en contacto ulterior con l.c.r. de enfermos de esclerosis múltiple, puso de manifiesto la ausencia de gammaglobulina con comportamiento antigénico distinto a la del l.c.r. normal.

*En el l.c.r. de los enfermos de esclerosis múltiple hemos podido demostrar la existencia de dos proteínas de aparente origen no plasmático, idéntica a las encontradas en el l.c.r. de los individuos normales.*

**LAS PROTEINAS DEL L.C.R. EN LA NEUROLUES**



La sífilis, en su invasión neurológica, especialmente parálisis general progresiva y tabes, muestra un aumento de gammaglobulina en el espectro del l.c.r. Esto fue observado por Booi, en sus trabajos efectuados entre 1949 y 1952. Posteriormente ha sido confirmado por las publicaciones al respecto hechas por Schneider (1951), Biagini (1955) y Hoff (1960).

A pesar de lo interesante de estos hallazgos, no han encontrado demasiado eco en los últimos años, ya que prácticamente todos los estudiosos en estas materias se han limitado a estar de acuerdo en esta hipergammaglobulinorraquia, sin concederle en modo alguno la trascendencia otorgada a la de la esclerosis múltiple o panencefalitis esclerosante subaguda. En cierto modo, nosotros hemos recaído de forma imprevista en el mismo defecto y, por tanto, creemos que estamos en condiciones de interpretar el porqué de esta especie de negligencia ante el l.c.r. de la neurolúes. Por un lado, la neurolúes, si bien es cierto que no es tan infrecuente como se acostumbra a decir, ha modificado su actualidad clínica; decimos modificado porque acostumbra a presentarse de forma solapada, quizás por la prodigada administración de antibióticos. Recordamos al respecto dos casos en los que en medio de una clínica confusa el único hallazgo objetivo fue una vejiga neurógena, y el único dato de laboratorio positivo el "test" de Nelson, siendo negativos en suero y l.c.r., Wassermann y V.D.R.L. No es extraño que pasen, por tanto, casos sin diagnosticar, y tampoco en los que se diagnostican de esta forma el que no se efectúe un E.E.F. del l.c.r., después de haberse realizado una barahúnda de exámenes complementarios a tales enfermos. Por otra parte, el caso de la sífilis en estas pruebas no es el mismo de otras afecciones, como las antes citadas, ya que no representa la electroforesis del l.c.r. el dato o uno de los datos paraclínicos definitivos, como sucede en la esclerosis múltiple. De ahí que las casuísticas del E.E.F. en el líquido de este tipo de enfermos sean escasas y despierten un menguado interés en quienes estudian estos problemas.

Lowenthal (1964) ha estudiado el l.c.r. de 29 pacientes afectados de neurolúes, haciendo entre ellos dos series, según que la enfermedad mostrase signos clínicos de franca evolución o ésta se en-



contrase en un estadio aparentemente estacionario con largo tiempo de conocimiento de su existencia y tratamientos más o menos eficaces. En la primera de las condiciones se observa siempre una elevación de gammaglobulina, menos importante que en la L.E.S.S., y habitualmente a expensas de las subfracciones de movilidad rápida; también es frecuente el hallazgo de una disminución en los valores de beta 1 y un aumento en los de tau. En la serie estudiada en fase estacionaria, los hallazgos son los mismos, pero menos ostensibles.

Laterre (1965) ha examinado 13 casos en los que las reacciones específicas de lúes habían sido positivas, encontrando en todos ellos un aumento de gammaglobulina más cuantioso que en la esclerosis múltiple, viniendo a dar una media del 30 al 40 por 100 de las proteínas totales. Por inmunoelectroforesis, este autor menciona el haber encontrado en alguno de los casos la existencia de IgA y/o de IgM.

En otras experiencias, tales como la de Yahr y cols. (1954), el porcentaje de positivities ha sido más discreto, reduciéndose al 74 por 100 de los casos, si bien esto en gran parte depende del criterio de selección de los enfermos.

## ESTUDIOS PERSONALES EN LA NEUROLUES

CASO 1.—G. G. C.—Treinta y seis años.—Varón.

Diagnóstico clínico: Tabes dorsal.

V.D.R.L. (suero): + + + +

V.D.R.L. (l.c.r.): + + + +

Examen clásico l.c.r.:

Células 1/mm.c.

Proteínas 22 mg. por 100 c.c.

Pandy +

Oro: 0012223332

E.E.F. del l.c.r.:

Prealbúmina ... ..	8,17 %
Albúmina ... ..	52,20 %
Alfa 1 ... ..	3,45 %
Alfa 2 ... ..	5,66 %
Beta 1 ... ..	10,06 %
Tau ... ..	5,97 %
Gamma ... ..	14,46 %

Relación gamma l.c.r./beta l.c.r. = 0,90.

Movilidad relativa gamma: Dos sufracciones de movilidades 0,166 y 0,261, respectivamente.

CASO 2.—A. O. V. Sesenta años. Varón.

Diagnóstico clínico: Tabes dorsal.

Wassermann (suero): + + + +

Meinicke (suero): + + +

V.D.R.L.: positivo 1/4 en l.c.r.

Nelson (suero): 100 por 100 positivo.

Examen clásico l.c.r.:

Células 1/mm.c.

Proteínas 19 mg. por 100 c.c.

Pandy —

Oro: 0112100000

E.E.F. del l.c.r.:

Prealbúmina ... ..	7,67 %
Albumina ... ..	48,08 %
Alfa 1 ... ..	6,13 %
Alfa 2 ... ..	7,16 %
Beta 1 ... ..	8,43 %
Tau ... ..	5,62 %
Gamma ... ..	16,87 %

Relación gamma l.c.r. (beta l.c.r.) = 1,20.

Movilidad relativa gamma: Desde 0,150 hasta 0,215.

CASO 3.—M. B. G. Cincuenta y seis años. Varón.

Diagnóstico clínico: Parálisis general progresiva.

Wassermann (suero): negativo .

V.D.R.L. (suero): positivo 1/8.

V.D.R.L.: (l.c.r.): positivos 1/8.

Nelson (suero): 98 por 100 positivo.

Nelson (l.c.r.): 80 por 100 positivo.

Examen clásico l.c.r.:

Células 2/mm.c.

Proteínas 21 mg. por 100 c.c.

Pandy +

Oro: 1122211100

E.E.F. del l.c.r.:

Prealbúmina ... ..	4,15 %
Albumina ... ..	51,51 %

Alfa 1	...	3,83	%
Alfa 2	...	6,30	%
Beta 1	...	7,35	%
Tau	...	4,15	%
Gamma	...	22,68	%

Relación gamma l.c.r./beta l.c.r. = 1,97.

Movilidad relativa gamma: Desde 0,114 hasta —0,057.

CASO 4.—I. Z. C. Cincuenta y tres años. Varón.

Diagnóstico clínico: Parálisis general progresiva.

V.D.R.L. (l.c.r.): positivo.

Nelson (suero): 100 por 100 positivo.

Examen clásico l.c.r.:

Células 2/mm.c.

Proteínas 27 mg. por 100 c.c.

Pandy +

Oro: 0000012100

E.E.F. del l.c.r.:

Prealbúmina	...	0,00	%
Albúmina	...	51,91	%
Alfa 1	...	5,73	%
Alfa 2	...	7,10	%
Beta 1	...	12,56	%
Gamma	...	22,67	%

Relación gamma l.c.r./beta l.c.r. = 1,80.

Movilidad relativa gamma: Desde 0,150 hasta 0,275.

CASO 5.—U. F. R. Cuarenta y un años. Varón.

Diagnóstico clínico: Lues meningo-vascular.

Wassermann (suero): positivo.

Wassermann (l.c.r.): positivo.

Examen clásico l.c.r.:

Células 7/mm.c.

Proteínas 95 mg. por 100 c.c.

Pandy +++

Oro: 0011211100

E.E.F. del l.c.r.:

Prealbúmina	...	3,40	%
Albúmina	...	44,61	%
Alfa 1	...	5,81	%
Alfa 2	...	8,11	%

Beta 1 ... ..	11,22 %
Gamma ... ..	26,84 %

Relación gamma l.c.r. (beta l.c.r.) = 2,39.

Movilidad relativa gamma = Tres subfracciones de movilidades 0,090, 0,200 y 0,300, respectivamente.

CASO 6.—N. M. D. Cincuenta y siete años. Varón.

Diagnóstico clínico: algias de probable etiología luética.

Wassermann (suero): + + + +

Meinicke (suero): + + +

V.D.R.L. (suero): positivo 1/4.

Nelson (suero): 100 por 100 positivo.

Examen clásico l.c.r.:

Células 1/mm.c.

Proteínas 30 mg. por 100 c.c.

Pandy +

Oro: 0011110000

E.E.F. del l.c.r.:

Prealbúmina ... ..	3,15 %
Albúmina ... ..	58,80 %
Alfa 1 ... ..	3,62 %
Alfa 2 ... ..	6,27 %
Beta 1 ... ..	9,99 %
Gamma ... ..	18,13 %

Relación gamma l.c.r./beta l.c.r. = 1,81

Movilidad relativa gamma: Desde 0,0816 hasta 0,2244.

Finalmente estudiamos el l.c.r. de un enfermo afecto de polineuritis etílica, en cuyo l.c.r. había sido fuertemente positiva la reacción V.D.R.L. Observamos en su E.E.F. un aumento de prealbúmina y una importante estela que se iniciaba en beta 1 y que iba decreciendo en intensidad paulatinamente hasta desaparecer en la zona gamma de movilidad rápida, respondiendo exactamente a la imagen observada por Laterre en algunos casos de los denominados por este autor "perfil degenerativo". Este enfermo, a quien se comprobó en un nuevo examen la negatividad de V.D.R.L. y del "test" de Nelson, fue tratado en el sentido de su polineuritis con regresión completa de su sintomatología. Este caso, en el que sin duda existió un error previo de laboratorio, fue alentador en el sentido de la fidelidad de los hallazgos en el E.E.F. del l.c.r. en la neurolúes.

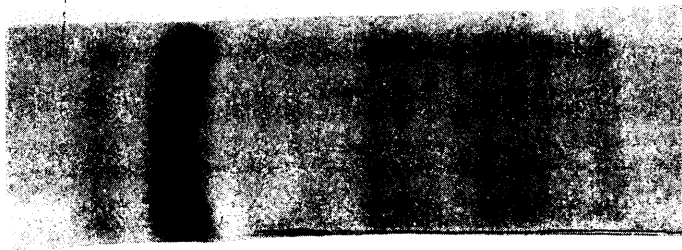


FIG. 17.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 1 de Neurolúes.

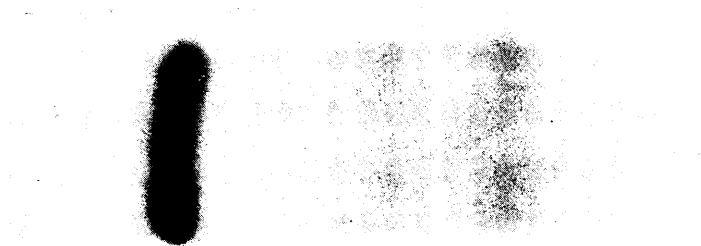


FIG. 18.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 4 de Neurolúes.



FIG. 19.—E.E.F. de l.c.r. Caso número 5 de Neurolúes.

#### OBSERVACIONES EN NUESTRA SERIE DE NEUROLUES

Por la exigüidad de nuestra casuística, no es posible establecer relaciones entre ninguna de las características del E.E.F. y la situación evolutiva de cada forma clínica. Por ello, preferimos hacer un análisis global de nuestros hallazgos.

En lo que concierne al examen clásico del l.c.r. consideramos los casos bajo las siguientes denominaciones: Caso 1, atípico. Caso 2, dudosamente positivo. Caso 3, dudosamente positivo. Caso 4, normal. Caso 5, inespecífico. Caso 6, normal.

Los dos primeros casos, con el diagnóstico clínico de tabes dorsal, tienen gran similitud en las características de sus respectivos E.E.F., y responden a las descritas en la literatura, excepción hecha de una elevación de gammaglobulina mucho menor. Se observa aumento de prealbúmina, disminución de albúmina, normalidad de alfas y beta 1, y discreto aumento de tau. La gammaglobulina presenta una movilidad muy rápida, de tipo gamma 0, gamma 2, y gamma 1, gamma 2, respectivamente, y, como ya hemos mencionado, su elevación no pasa de moderada.

El primero de los casos de P.G.P. muestra un discreto descenso de beta 1, y un importante aumento de gamma. Su movilidad relativa es igualmente rápida (gamma 0, gamma 1, gamma 2).

El segundo caso de parálisis general es muy discordante, con ausencia de prealbúmina y de tau. La elevación de gamma es

muy ostensible, pero con movilidad de tipo medio-lento (gamma 2, gamma 3, gamma 4, gamma 5 y gamma de movilidad negativa).

Ambos casos, de probable afectación meningo-vascular crónica, muestran un descenso discreto de prealbúmina, ausencia de tau e importante aumento de gamma con movilidad rápida (gamma 0, gamma 1, gamma 3 y gamma 1, gamma 2, respectivamente).

**LAS PROTEINAS DEL L.C.R. EN LA  
PANENCEFALITIS ESCLEROSANTE SUBAGUDA**





La panencefalitis esclerosante subaguda, término que ha venido a fusionar las entidades descritas por Dawson (1934), Pette y Doring (1939) y Van Bogaert (1952), es un síndrome inicialmente considerado excepcional y que en el transcurso de los últimos años es diagnosticado cada vez con más frecuencia, probablemente a través de una mayor difusión de su conocimiento entre la clase médica, así como por la contribución a su diagnóstico de los medios de exploración paraclínicos, tales como la electroencefalografía, estudio de las proteínas del l.c.r. y generalización de la biopsia cerebral.

Si bien desde un principio fue señalada la existencia en gran parte de las observaciones anatómicas de inclusiones intraneuronales de presumible origen viral, recientemente el progreso de las técnicas inmunológicas y virológicas ha permitido centrar el problema de esta enfermedad sobre los mixovirus, probablemente el del sarampión, a través del desarrollo de un proceso de autoinmunidad. Por otra parte, el carácter sistemático letal admitido para este proceso, va siendo modificado en los últimos años, por la descripción de casos aislados, entre ellos una observación personal nuestra, en los que el proceso queda detenido o incluso, como en nuestro caso, se observa una importante regresión de la sintomatología.

El cuadro clínico está constituido a grandes rasgos por un cuadro demencial generalmente infantil, que conduce hacia un síndrome de descerebración o decorticación en el que habitualmente en un momento de la evolución se observa la presencia de mioclonías rítmicas, acompañadas de las alteraciones periódicas del E.E.G. que constituyen los complejos descritos por Radermecker en 1960. Se ponen de manifiesto alteraciones proteicas centradas sobre las gammaglobulinas y en especial sobre la IgG, localizándose fundamentalmente el trastorno sobre el l.c.r., si bien aunque en menor proporción, puede observarse en ocasiones una repercusión sobre las globulinas séricas.

Las variaciones de esta descripción general pueden ser muchas, siendo de especial dificultad diagnóstica aquellas que mantienen a lo largo de gran parte de su evolución un aspecto casi ex-

clusivamente demencial, sin el cortejo de síntomas neurológicos habituales (Alberca, Liaño y otros, 1967).

Kabat y cols. en 1942 ya observaron en estos enfermos la desviación a la izquierda de la curva coloidal en el l.c.r., acompañada de normalidad de las gammaglobulinas séricas, sugiriendo que el correspondiente aumento de las gammaglobulinas del l.c.r. se centraba en la IgG y en su hipótesis dependería de una excesiva formación por el sistema nervioso central. Corresponde a Bücher en 1952 la primera demostración del aumento de gammaglobulina en el l.c.r. de estos enfermos por electroforesis sobre papel. Posteriormente numerosos autores han corroborado con sus trabajos esta observación (Bauer, 1956; Booij, 1958; Vymazal y colaboradores, 1959; Lowenthal y cols. 1962; Lowenthal, 1964; Laterre, 1965), demostrando que esta hipergammaglobulinorraquia tiene lugar a expensas de una elevación fundamentalmente de las subfracciones gammaglobulínicas más lentas.

Por otra parte, los estudios de Dencker y Kolar (1965), ponen de manifiesto, por inmunoelectroforesis, la morfología anormal que en el l.c.r. de estos pacientes presenta el trazo de precipitación de la IgG, llamando la atención sobre la existencia de dos depósitos situados a niveles anódico y catódico de esta proteína, que se traducen en sendas incurvaciones de la línea de precipitación. En ocasiones mencionan el hallazgo de bifurcaciones en la porción terminal catódica de la IgG, así como la observación esporádica de gamma "extra", similar a la mencionada por Dencker (1964) en el l.c.r. de los enfermos de esclerosis múltiple.

En la opinión de la mayoría de los autores no existen hallazgos de interés en las proteínas séricas, aunque esporádicamente se citan concordancias con el l.c.r. durante algunos períodos de tiempo, con hallazgo de una elevación de gammaglobulina en suero, y especialmente con un paralelismo entre las subfracciones patológicas del l.c.r. y las del suero.

Es conocida desde los trabajos de Kolar (1968) la existencia en estos enfermos de una hipersensibilidad para el antígeno obtenido de cerebros de panencefalitis, demostrable por inyección intradérmica de este antígeno en el cobaya, e inyectando intraperitonealmente en el mismo animal suero o líquido cefalorraquídeo procedente de enfermos panencefálicos, que provoca una reacción dérmica local. Asimismo es importante la observación de este autor de que los resultados positivos son mucho más frecuentes con l.c.r. que con suero, a pesar de que el primero tiene un contenido en células y proteínas muchísimo menor. Esta reacción, sin embargo, no parece absolutamente específica para la panencefalitis, apareciendo positividad del antígeno frente a sueros o líquidos de otras enfermedades inflamatorias subagudas o desmie-

linizantes. Todos estos hechos en principio podrían apoyar la hipótesis de la existencia de mecanismos inmunológicos comunes en toda una serie de enfermedades desmielinizantes, así como una cierta tendencia a la localización o predominio de las alteraciones en el sistema nervioso y l.c.r.

Parece evidente la posibilidad de formación local intracerebral de la mayor parte de las proteínas cuyo paso al l.c.r. permite el diagnóstico biológico de un buen número de procesos desmielinizantes como la panencefalitis y esclerosis múltiple; esta hipótesis parece más probable que la mantenida por Peter en 1967 que atribuye a las células plasmáticas habituales en los l.c.r. de estos enfermos la hipergammaglobulinorraquia, sorprendiéndose de la falta de correlación entre la tasa de globulinas y el número de células plasmáticas.

Tourtellotte y cols. encuentran una correlación entre la concentración de IgG en las placas y en la sustancia blanca, aparentemente normal, de sus enfermos de E.M. y la concentración de esta globulina en el l.c.r. concluyendo que su aumento dentro de este último, refleja el exceso de su producción cerebral. Estos autores, trabajando sobre extractos cerebrales de E.M. observan que en ellos existe una mayor concentración de IgG que en los controles normales, atribuyendo en hipótesis la formación de esta globulina a las células inmunocompetentes que frecuentemente rodean los capilares y pequeños vasos del parénquima, así como a las células que rodean el margen avanzado de las placas escleróticas. Estos datos vendrían a confirmar los hallazgos de Kolar (1966), así como los de Cutler y cols. (1965), utilizando estos últimos un sistema totalmente diferente para la investigación de la producción de IgG por el S.N.C. mediante un método de perfusiones continuas ventrículo-lumbares, comparando la producción de IgG en dos enfermos de panencefalitis frente a un grupo de gliomas pónicos tomados como control. La producción de IgG en estos enfermos control era de unos 86 mg. diarios, mientras que en los casos de panencefalitis, era tres veces mayor con cifras de 235 a 289 mg. diarios. Tourtellotte se plantea el problema del papel de la barrera hematoencefálica en esta hiperproducción de inmunoglobulina resolviéndolo en el sentido de que la alteración de esta barrera juega una mínima parte de este aumento, que en su 95 por 100 correspondería a una producción intraparenquimatosa local.

Todo parece, pues, estar en favor de la posibilidad de que la fuente de este aumento de inmunoglobulina tanto en la panencefalitis como en la esclerosis múltiple tenga su origen en células inmunocompetentes localizadas en el parénquima nervioso, y que

por lo menos en su mayor parte las alteraciones proteicas y citológicas del l.c.r. sean el reflejo o expresión de esta actividad intraparenquimatosa.

Sin embargo, la existencia de una globulina gamma normal no excluye la posibilidad de detección de autoanticuerpos cerebrales y a su vez el fallo para detectar anticuerpos circulantes frente a un antígeno encefalitógeno sistema nervioso específico, tampoco excluye la autoinmunidad como un factor en la etiología de cada caso clínico (Kolar, 1968; Lisak y cols., 1968). Estos últimos autores observan que la gammaglobulina dotada de una actividad anti-sistema nervioso es rápidamente fijada por los tejidos cerebrales de los enfermos, haciendo notar que es muy probable que la existencia de un estado de hipersensibilidad celular frente a los anticuerpos circulantes sea más responsable que el grado de estos últimos en el desencadenamiento de la lesión, estableciendo una comparación con los hechos observados en la encefalitis alérgica experimental en la que los fenómenos de reactividad cutánea fuertemente positivos antes del comienzo de la sintomatología desaparecen rápidamente con el curso de la enfermedad, haciendo notar a este respecto, que la falta de hipersensibilidad tardía en los enfermos de E.M. no elimina por tanto el papel de este mecanismo inmunológico en el curso de la enfermedad.

Autores como Kolar observan fluctuaciones importantes en el nivel de gamaglobulinas, título de auto-anticuerpos y citomorfología del l.c.r. durante el curso de la panencefalitis, obteniendo variaciones en el nivel de globulinas del 5 al 7 por 100 durante el curso de la enfermedad. Sin embargo, falta una correlación entre los trastornos inmunológicos, bioquímicos y electroencefalográficos con la intensidad de las manifestaciones clínicas. No obstante, en opinión de este autor los gradientes claramente pronunciados en el E.E.F., de la gammaglobulina aparecen en su material con más nitidez durante las fases de relativa estabilización de la enfermedad.

A nuestro juicio tiene un enorme interés la observación de este autor sobre las alteraciones inmunológicas y citológicas que indican una fase de evolutividad en la panencefalitis. En estos momentos se observaría un descenso tanto en l.c.r. como en suero de los niveles de gammaglobulina, una disminución en la actividad de los autoanticuerpos, y una sustitución en la citomorfología del líquido de los plasmocitos, que en trabajos de los últimos años parecen constituir un elemento habitual, tanto en los l.c.r. de panencefalitis como en los de esclerosis múltiple, y que serían sustituidos durante estas fases de agudización del proceso por linfocitos activados y reticulomonocitos.

En resumen, y sin que sean excesivamente numerosos los trabajos sobre la cuestión, podría pensarse en principio en la posibilidad de establecer dos tipos de estados biológicos en la panencefalitis. Períodos de relativa estabilización clínica del proceso, caracterizados por un elevado nivel de la tasa de autoanticuerpos y de inmunoglobulinas que, a su vez, mostrarían una distribución en bandas fragmentadas múltiples de tipo oligoclonal, y células plasmáticas abundantes en el l.c.r., y otro diferente patrón cito-inmuno-biológico, más propio de los estados de agudización del proceso, en el que se observaría una disminución de los niveles de inmunoglobulinas y autoanticuerpos, acompañada de una sustitución de las células plasmáticas por linfocitos estimulados y reticulomonocitos.

Quizás sea posible relacionar estas oscilaciones de los niveles de inmunoglobulinas y anticuerpos con la sorprendente negatividad de anticuerpos frente al sarampión en el tejido cerebral del caso Kolar que el autor atribuye al desarrollo de una reacción antígeno-anticuerpo durante el curso de la homogeneización de la pieza biopsica.

Es cuando menos tentador pensar que los diferentes factores de sensibilidad celular y niveles de anticuerpos sufren oscilaciones en el curso del proceso, y que precisamente, en los momentos de hipersensibilidad celular sea cuando desarrollen el brote clínico o la progresividad lesional a través de un consumo de los anticuerpos por el tejido cerebral, siendo, por tanto, ellos, como las inmunoglobulinas que los forman, menos fácilmente detectables que durante las fases de estabilización clínica.

Indudablemente, como hace notar Kolar, tenemos datos más que suficientes para pensar que tanto en la panencefalitis como en la esclerosis múltiple, participan de forma muy importante procesos de autoinmunidad, pero, sin embargo, la existencia de la barrera hematoencefálica, la ausencia de sistema linfático típico dentro del sistema nervioso y las particularidades de su sistema mesenquimal, hacen que el desarrollo de los procesos inmunológicos, ya de por sí complicados, sean particularmente difíciles de seguir cuando, como ocurre en la panencefalitis y esclerosis múltiple, se desarrollan en forma muy selectiva y prácticamente limitados a las estructuras del sistema nervioso central.

#### ESTUDIOS PERSONALES EN LA PANENCEFALITIS ESCLEROSANTE SUBAGUDA

El material patológico objeto de nuestro examen, lo componen nueve casos de panencefalitis esclerosante subaguda, de los cua-

les cuatro de ellos han sido estudiados clínicamente en nuestro servicio. De los cinco restantes nos fue enviado el l.c.r. acompañado de los datos clínicos, E.E.G., etc., solicitados.

Los datos clínico-evolutivos y de exploración clínica y complementaria generales de estos casos quedan resumidos en el cuadro número 5.

En todos los enfermos realizamos examen electroforético de las proteínas del l.c.r., según la técnica habitual.

En todos los casos, a excepción del número 1, se practicó inmunoelectroforesis con las disposiciones siguientes:

1. L.c.r. problema (enfermo de panencefalitis) frente a suero de conejo anti-suero-humano-total, en presencia del l.c.r. normal.
2. L.c.r. problema, frente a suero de conejo anti-inmunoglobulina en presencia de l.c.r. normal.
- 3.—L.c.r. problema, frente a suero de conejo anti-l.c.r.-humano-total en presencia de l.c.r. normal.

La técnica de inmunoelectroforesis utilizada fue la habitual en nuestros trabajos. Los inmunosueros utilizados fueron los siguientes: a) suero de conejo anti-S.H.T.: laboratorios Hyland. b) suero de conejo anti-Igs: laboratorios Hyland. c) suero de conejo anti-l.c.r.-humano-total: obtención personal ya descrita.

Habiendo demostrado en anteriores apartados la presencia en el l.c.r. de los sujetos normales de dos proteínas no plasmáticas, procedimos a la investigación de las mismas en el l.c.r. de los enfermos de panencefalitis esclerosante subaguda, de acuerdo con la siguiente metodología:

Con un "pool" de l.c.r. de estos enfermos inmunizamos conejos, obteniendo un suero de conejo anti-l.c.r. de enfermos de panencefalitis. A continuación procedimos a la absorción del suero de conejo específico, con un "pool" de sueros humanos, extraídos a individuos sanos y a enfermos, entre los que se dio preferencia a los que mostraban disproteinemia. La proporción óptima para esta absorción fue la de 1 a 4 (3 c.c. de suero de conejo específico y un c.c. de "pool" de sueros).

El suero de conejo anti-l.c.r. de panencefalitis, absorbido con "pool" de sueros humanos fue puesto en contacto con "pool" de sueros humanos, "pool" de l.c.r. humano normal y "pool" de l.c.r. de enfermos de panencefalitis.

Tanto para la detección final de proteínas no plasmáticas, como para los exámenes control previos, la técnica utilizada fue la de doble difusión en agar, según método de Ouchterlony.

CUADRO 5

Caso	Edad y sexo	Evolución	Clínica	E.E.G.	E.E.F. suero	Células Proteínas	L.C.R.	Pandy	Oro	Otros datos
1.—F.C.S.	9 años V	6 meses	Demenciación	Típico	Normal	2	28	++	5543332110	Neumoencefalografía: Normal. Biopsia cereb.: Panencefalitis.
2.—A.F.R.	9 años V	1 mes	Demenciación Mioclonías Rig. oposc	Típico	Normal	1	22	+	5543311100	—
3.—J.L.A.	16 años V	3 meses	Demenciación Mioclonías	Típico	Normal	3	32	+++	5544432111	—
4.—J.P.R.	5 años V	20 días	Demenciación Crisis gener.	Típico	—	2	28	+	5554321000	—
5.—S.H.C.	5 años H	2 años	Decorticación	Lentif. difusa	—	4	50	++	2111000000	Biopsia cereb.: Panencefalitis.
6.—J.J.A.	6 años V	4 meses	Demenciación Mioclonías	Típico	Normal	2	25	++	5432211100	—
7.—J.J.M. l.c.r. ventric.	4 años V	3 meses	Demenciación Mioclonías	Típico	Normal	2	11	—	0000000000	Biopsia cereb.: Panencefalitis.
8.—C.P.T.	6 años H	6 meses	Demenciación Mioclonías	Típico	—	2	62	—	1221100000	—
9.—V.M.D.	6 años H	15 días	Demenciación Mioclonías	Típico	Normal	7	28	+	5443321100	Biopsia cereb.: Panencefalitis.



CUADRO 6

**ELECTROFORESIS DEL L.C.R. PANENCEFALITIS  
(VALORES PORCENTUALES)**

Caso	Prealb.	Albúm.	Alfa 1	Alfa 2	Beta 1	Beta 2-Tau	Gamma	Núm. de bandas de gamma-globulina
1	3	50	4	5	8	2	28	1
2	6,74	34,35	2,65	7,15	6,54	4,29	38,23	2
3	5,86	33,17	2,22	6,21	9,84	5,15	37,50	3
4	6,22	33,62	2,22	5,18	8	2,81	41,92	1
5	2,31	47,25	0,71	4,09	4,45	1,96	39,20	2
6	1,18	61,40	3,37	4,34	3,77	0,92	24,98	2
7	11,89	40,89	2,23	4,08	7,80	5,94	27,13	1
8	2,50	22,34	No detecta	3,22	5,25	—	66,65	4
9	4,12	26,60	1,28	4,12	5,83	2,84	55,17	5

**RESULTADOS**

Las cifras porcentuales obtenidas en los nueve casos de panencefalitis están expresadas en el cuadro número 6.

En los enfermos de panencefalitis la frecuencia de aparición de las subfracciones de gammaglobulina fue

Gamma 0	...	0 casos
Gamma 1	...	2 "
Gamma 2	...	5 "
Gamma 3	...	9 "
Gamma 4	...	7 "
Gamma 5	...	3 "
Gamma negativo	...	1 caso

La relación alfa 2-alfa 1, en la población normal de  $1.694 \pm 1.222$ , fue en los enfermos de panencefalitis (exceptuando el caso 8 en el cual no se detectaba electroforéticamente la presen-

cia de alfa 1) de 2.352, con valores máximos de 5.760 en el caso número 5 y valor mínimo de 1.250 en el caso 1.º

La relación gamma-beta en l.c.r. de los enfermos de panencefalitis dio un valor medio de 4.932, con un máximo de 12.695 en el caso número 8 y un mínimo de 1.974 en el caso número 7.

En los estudios inmunolectroforéticos hemos observado la presencia en los ocho casos estudiados de una morfología anormal en el trazo de precipitación de la IgG, consistente en la existencia de dos incurvaciones, la primera de ellas situada a nivel de la zona anódica y la otra en la porción catódica de la línea de precipitación de esta proteína. Este hecho es más ostensible en algunos de los casos (números 3, 6 y 8). Por otra parte, la IgG del l.c.r. del caso número 3 presenta a nivel catódico un desdoblamiento de la línea de precipitación, cuando el inmunosuero utilizado es suero de conejo anti-l.c.r.-humano-total. Es dudosa la observación de este mismo fenómeno en el caso número 6. En ninguno de los casos hemos observado la existencia de gamma "Extra" en forma convincente.

El suero de conejo anti-l.c.r. de enfermos de panencefalitis absorbido con "pool" de sueros humanos, mostró una respuesta nula frente al "pool" de sueros humanos, indicando su correcta absorción. Y frente al "pool" de l.c.r. de enfermos de panencefalitis mostró la existencia de dos bandas de precipitación idénticas a las obtenidas frente al "pool" del l.c.r. de sujetos normales.

#### OBSERVACIONES EN NUESTRA SERIE DE PANENCEFALITIS ESCLEROSANTE SUBAGUDA

De los nueve casos estudiados, seis eran varones y tres hembras.

En el momento de nuestro estudio, la edad media de los enfermos fue de siete años, oscilando los casos límites entre cuatro y dieciséis años. El tiempo de evolución de la enfermedad en nuestro grupo de enfermos es relativamente breve, de unos cinco meses, correspondiendo la menor evolución a quince días, y la mayor a dos años.

No hallamos paralelismo entre edad o tiempo de evolución de la sintomatología y características e intensidad del proceso, que evoluciona rápidamente en unos casos y más lentamente en otros.

En 8 de nuestros casos, con evolución no superior a seis meses, el E.E.G. mostró la presencia de típicos complejos periódicos,

y solamente en la observación número 5, lentificación difusa, situación biceléctrica ampliamente descrita en la literatura, durante las fases avanzadas de la enfermedad.

Las proteínas séricas fueron estudiadas en seis de los casos: las proteínas totales y su E.E.F. sobre papel fueron normales en todos ellos. (En los casos 4, 5 y 8, procedentes de otros Centros, no nos fue enviada muestra de suero del enfermo.)

La cifra de proteínas totales en el l.c.r. era normal en los casos 1, 2, 3, 4, 7, y 9, y discretamente elevada siempre con valores inferiores a 100 mg. por 100, en los casos 5, 6 y 8. No hemos encontrado ninguna relación entre los valores totales de proteínas y el número de células en el l.c.r., cuyo conteo ha resultado siempre dentro de cifras valorables como patológicas, resultados que concuerdan con los aportados por otros autores, en el sentido de que las proteínas y células habitualmente halladas en la panencefalitis, son normales o apuntan hacia una discreta disociación albúmino-citológica.

La desviación a la izquierda de la curva de oro coloidal que aparece netamente en los casos 1, 2, 3, 4, 6 y 9, se esboza solamente en los casos 5 y 8, siendo totalmente negativa en el caso 7, procedente de punción ventricular. En principio, estos datos podrían hacer pensar que las positivities solamente discretas serían más frecuentes en los l.c.r. hiperproteicos; sin embargo, el hecho de que los casos 5 y 8, estas determinaciones no hayan sido practicadas por nosotros nos invalida para obtener una conclusión definitiva al respecto. En el caso 7, la negatividad de la curva de oro coloidal probablemente justificada por su hipoproteíorraquia (nos fue remitido el l.c.r. con informe de haberse obtenido de punción ventricular) da mucho más valor diagnóstico al estudio electroforético, que fue positivo, justificando el gran valor clínico del método.

No hemos observado en nuestra experiencia una correlación entre los valores de gammaglobulina en el l.c.r., tanto porcentuales como absolutos, y la fase clínica y tiempo de evolución de la enfermedad. En este sentido, de los cuatro casos que han sido seguidos en su evolución a diario durante algunos meses por nosotros mismos, los números 1 y 3 que se encontraban en una fase francamente estacionaria y muy poco evolutiva del proceso, mostraban valores porcentuales y absolutos de gammaglobulina en l.c.r. muy similares o en todo caso ligeramente menores a los encontrados en los casos 2 y 9, en pleno período de agudización clínica. En principio, nuestros resultados parecen apoyar la hipótesis de Kolar sobre el aumento de valores en las fases de remisión y su descenso durante las agudizaciones clínicas. Sin embargo,

la observación de nuestros casos que nunca ha sobrepasado unos pocos meses no nos permite asegurar la ausencia de oscilaciones en cada evolución individual.

El aumento de gammaglobulina en el l.c.r., así como las particularidades de la distribución de sus subfracciones o gradientes, es el dato actual de mayor importancia para la confirmación biológica de la panencefalitis. El aumento de gammaglobulina ha sido ostensible en todos nuestros casos, siendo el valor medio porcentual para esta fracción de 39,86 por 100, lo que representa aproximadamente cuatro veces el valor medio normal en nuestros casos control.

En lo que se refiere a las restantes fracciones electroforéticas en el l.c.r. de nuestros enfermos de panencefalitis, observamos en los valores porcentuales un gran descenso de albúmina en la mayoría de los casos, moderada en el caso número 1, y con valor dentro de la normalidad para el caso número 6. Para la fracción beta 1, observamos un descenso moderado en los casos 2 y 7, importante en los casos 5, 6, 8 y 9, y en los límites inferiores de la normalidad en los números 1, 3 y 4. La fracción alfa 1, permanece en los límites normales en los casos 1, 2, 3, 4, 6 y 7, encontrando un moderado descenso en el caso número 9, importante disminución en el número 5, y siendo tan marcado este descenso en el caso 8, que no pudimos detectar la fracción a la hora de realizar la lectura. La alfa 2 se encuentra porcentualmente dentro de la normalidad en todos los casos, a excepción del caso número 8, que muestra un discreto descenso en su valor. En el grupo beta 2-tau, encontramos normalidad para los casos 2, 3, 4, 7 y 9, encontrándose descendidas en los casos 1, 5 y 6, y ausente en el caso 8. En lo que concierne a la prealbúmina, ésta se encuentra normal en los casos 2, 3, 4 y 9, descendida en los casos 1, 5 y 8, y muy aumentada en el caso 7, si bien recordamos nuevamente la peculiaridad de ser éste un l.c.r. ventricular, y, como es sabido, este tipo de l.c.r. contiene cantidad superior de prealbúmina que la de los que proceden de punción espinal o cisternal.

En resumen, nuestros valores porcentuales orientan hacia la existencia de una hipergammaglobulinorraquia en estos enfermos, realizando su aumento, al parecer, a expensas de un importante descenso de albúmina en la mayoría de los casos, unido a un descenso menos considerable y general de las fracciones alfa 1 y beta 1.

Nuestros hallazgos, en lo que a valores porcentuales se refiere, coinciden plenamente con la experiencia de Lowenthal (1964), realizada sobre agar-gel. Este autor observa una importante elevación de gammaglobulina, acompañada de un descenso muy mar-

cado de albúmina, descenso de alfa 1, y normal o moderado descenso de beta 1. Sin embargo, nosotros no hemos observado el aumento de fracciones beta 2-tau, que Lowenthal menciona en sus casos de panencefalitis esclerosante subaguda.

El estado de permeabilidad de la barrera hematoencefálica ha sido otro de los puntos que hemos tratado de considerar en nuestros enfermos de panencefalitis. En este sentido, estudiamos la relación alfa 2-alfa 1 en nuestros casos de panencefalitis, observando, como era previsible por el estudio detallado de ambas fracciones, que este cociente se mantiene en los límites de la normalidad en la mayoría de los casos, y que cuando está aumentado (casos 5, 8 y 9) no es a expensas de una elevación de alfa 2, sino por el descenso de alfa 1. En general, y por estos criterios, no hay indicios valorables de alteración en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica de estos enfermos, estando nuestra experiencia de acuerdo, por tanto, con la opinión de Tourtellotte a este respecto.

Otra de las facetas consideradas en nuestro trabajo ha sido la concerniente a la distribución clonal y anormal frecuencia de aparición de las subfracciones o gradientes gammaglobulínicos, que muestran electroforéticamente los l.c.r. de los enfermos de esta afección.

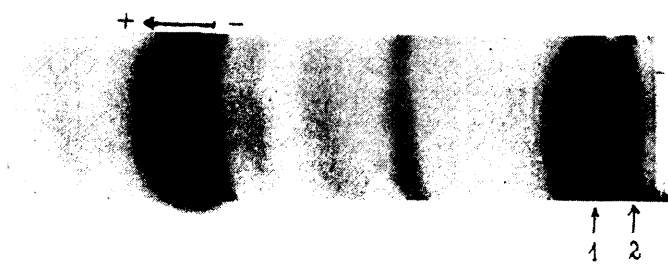
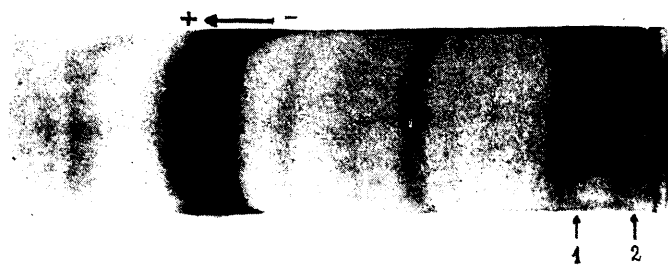
Queda demostrada en nuestra casuística la tendencia al predominio de subfracciones lentas, con aparición de gamma 5 y gamma de movilidad negativa, hecho no observado en nuestros casos normales, así como la ausencia de gamma 0 en éstos, y la disminución en la frecuencia de gamma 1 y 2, con aumento de gamma 4. Por tanto, nuestros hallazgos en este sentido están de acuerdo con la opinión general de la literatura. Sin embargo, no hemos podido observar relación entre la intensidad de este carácter clonal de la gammaglobulina y la estabilización de la enfermedad, como ha mencionado Kolar. Nuestros casos 2, 8 y 9, estudiados en momentos muy evolutivos de la enfermedad, con marcada nitidez clonal en su gammaglobulina, especialmente los dos últimos, son ejemplos de esta falta de relación que podemos observar en nuestra limitada experiencia.

Por otra parte, esta gammaglobulina que encontramos en nuestros enfermos de panencefalitis, aumentada cuantitativamente y al parecer no dependiendo de una trasudación exagerada de la B.H.E., y que posee electroforéticamente unas peculiaridades ya descritas, por inmunoelectroforesis se comporta normal, antigénicamente, pero exhibe una morfología particularmente anómala y característica, en relación al l.c.r. de los sujetos normales. El hallazgo constante, aunque con intensidad variable, de unos ca-

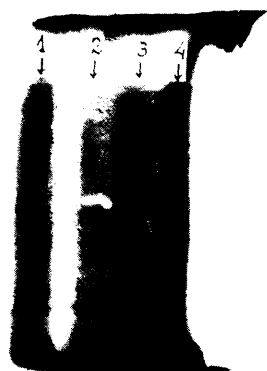
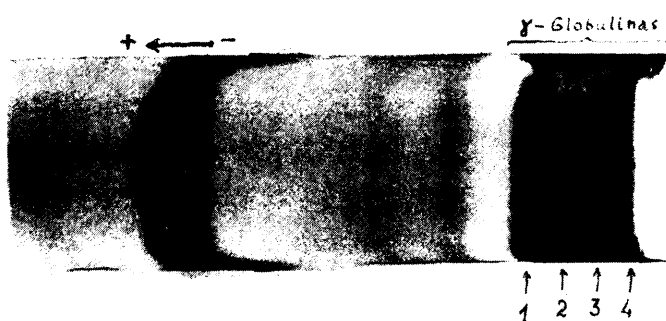
sos a otros, se encuentra en el trazo de precipitación correspondiente a la IgG. Esta inmunoglobulina presenta por inmunoelectroforesis una longitud en su línea precipitante anormalmente grande, desbordando anódicamente el territorio que en condiciones normales ocupa esta proteína en el l.c.r. En la zona en que habitualmente la IgG del l.c.r. normal muestra su principal depósito, o con un discreto desplazamiento negativo, se observa en la IgG del l.c.r. de estos enfermos un depósito exagerado, que se traduce morfológicamente por una marcada incurvación y gran engrosamiento de la línea de precipitación. En el extremo anódico de la IgG de estos enfermos, se produce igualmente otro depósito anómalo aunque menos intenso que el anterior, que del mismo modo ocasiona una incurvación en la línea, apenas perceptible en unos casos o muy llamativa en otros. Estas anomalías son constantes en su aparición, tanto que el inmunosuero utilizado sea anti-sue-ro-humano-total, anti-inmunoglobulinas o anti-l.c.r.-humano-completo.

Empleando este último inmunosuero hemos observado en el caso número 3 la presencia de una bifidez de la IgG, fenómeno ya descrito, al igual que los anteriores por Dencker y Kolar en 1965. Una terminación bífida en el extremo más catódico de la IgG en el caso número 8 nos ha parecido sugestiva, pero no concluyente.

Por último, hemos estudiado en el l.c.r. de nuestros enfermos de panencefalitis el estado de las proteínas no plasmáticas que habitualmente aparecen en el l.c.r. de los individuos normales. Estas mismas proteínas, hemos podido demostrarlas con las mismas características en el l.c.r. de nuestros enfermos de panencefalitis, comprobando que en este aspecto el l.c.r. de estos pacientes en nada difiere del de los normales.



FIGS. 20 y 21.—Casos números 5 y 6, de Panencefalitis. Presencia de dos netas bandas de gammaglobulina en el l.c.r., marcadas con flechas.



FIGS. 22 y 23.—Caso número 8, de Panencefalitis. Presencia de cuatro bandas de gammaglobulina en el l.c.r. marcadas con flechas. Pueden verse con mayor detalle en la figura 23.



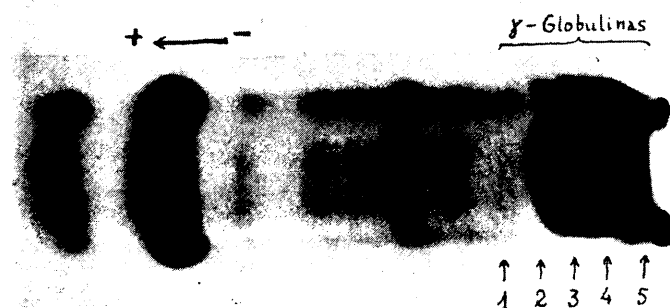


FIG. 24.

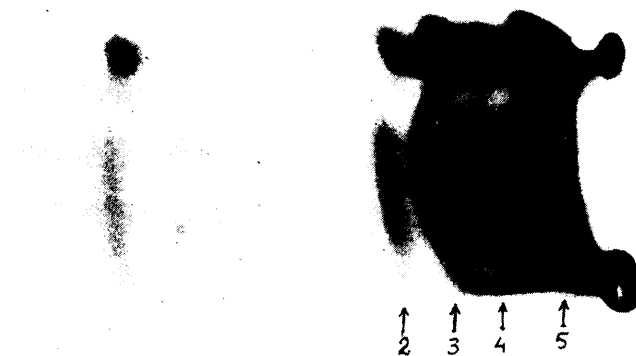


FIG. 25.

FIG. 24.—Caso número 9, de Panencefalitis. Presencia de cinco bandas de gammaglobulina en el l.c.r., marcadas con flechas. Las cuatro últimas pueden apreciarse con mayor nitidez en la figura 25.

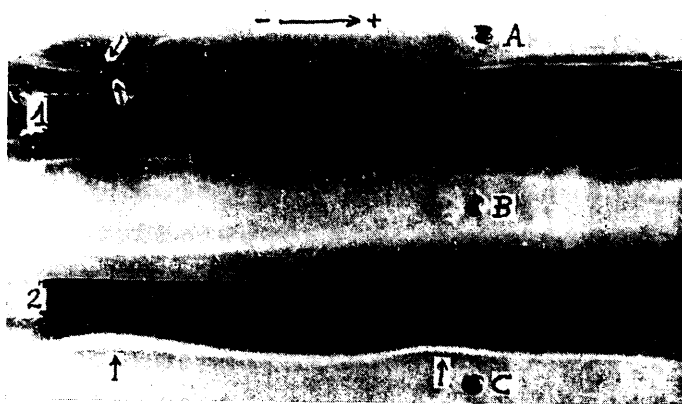


FIG. 26.—Caso número 3, de Panencefalitis. Inmunoelectroforesis: A y C: l.c.r. problema. B: l.c.r. normal. 1: Suero de conejo anti-l.c.r.-humano-total. 2: Suero de conejo anti-inmunoglobulinas. En la porción inferior de la fotografía se aprecian las marcadas incurvaciones de la IgG en el l.c.r. de Panencefalitis (flechas). En la parte superior se muestra entre flechas el desdoblamiento de la IgG patológica.

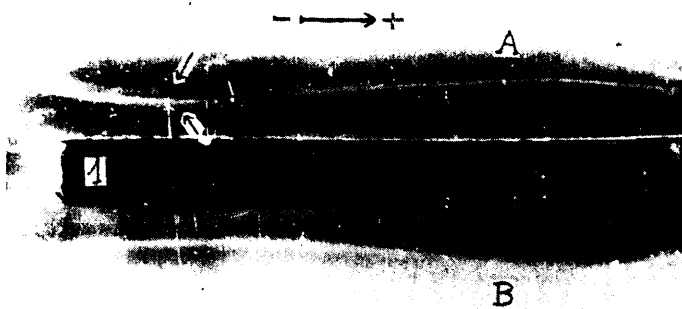


FIG. 27.—Caso número 3, de Panencefalitis. Inmunoelectroforesis: A: l.c.r. problema. B: l.c.r. normal. 1: Suero de conejo anti-l.c.r.-humano-total. Detalle del desdoblamiento de la IgG en este caso de Panencefalitis.

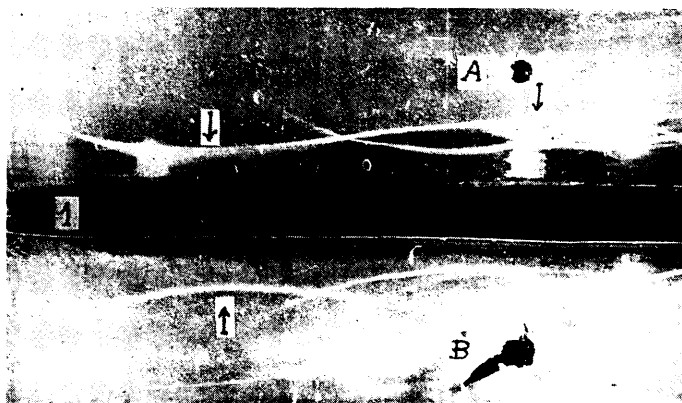


FIG. 28.—Caso número 6, de Panencefalitis. Immunoelectroforesis. A: l.c.r. problema. B: l.c.r. normal. 1: Suero de conejo anti-l.c.r.-humano-total. Doble depósito en la IgG de Panencefalitis (flechas), frente al depósito único del caso normal (flecha inferior).

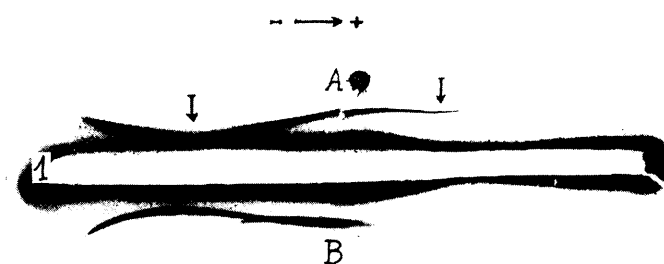


FIG. 29.—Caso número 8, de Panencefalitis. Immunoelectroforesis. A: l.c.r. problema. B: l.c.r. normal. 1: Suero de conejo anti-inmunoglobulinas. Típica línea de precipitación de la IgG en el l.c.r. de Panencefalitis. Doble incurvación señalada con flechas. Dudosa terminación bifida en el extremo catódico de la misma.



FIG. 30.—Caso número 9, de Panencefalitis. Inmunoelectroforesis. "Pocillo" superior l.c.r. problema. "Pocillo" inferior l.c.r. normal. "Trinchera" central: suero de conejo anti-inmunoglobulinas. Imagen similar a las anteriores de la IgG en el l.c.r. patológico.



**PERFIL “TRASUDATIVO” DEL L.C.R.**



Inicialmente, habíamos pensado fragmentar este apartado en distintos grupos clínicos, con sus correspondientes caracteres en el l.c.r. Sin embargo, hemos optado por hacerlo en esta forma, que engloba a todos ellos bajo el común denominador de una trasudación exagerada de proteínas plasmáticas a través de la barrera hematoencefálica (B.H.E.) y que, por otra parte, permite un estudio unitario de las alteraciones, consideradas “inespecíficas”, en la permeabilidad de la misma.

El acertado nombre de perfil “trasudativo” se debe a Laterre (1965), agrupando bajo el mismo las imágenes del l.c.r. que tienden a parecerse en E.E.F. e inmunoelectroforesis a las del suero por excesiva trasudación plasmática.

La barrera hematoencefálica, en líneas generales, tiene establecido un tope al paso de las proteínas plasmáticas a su través, y en condiciones normales, que viene fijado por el peso molecular de las mismas, de tal manera que cuando una proteína plasmática sobrepasa la cifra de 150.000 de peso molecular, prácticamente es inexistente en el l.c.r. De ahí que cuando la barrera pierde su condición de filtro, y además lo hace de forma no selectiva, por determinados procesos inflamatorios, vasculares, tumorales, etc., su aumento de permeabilidad suele seguir un gradiente determinado por el paso sucesivo a su través de proteínas cada vez de mayor peso molecular.

La primera de las proteínas plasmáticas que atraviesa la barrera cuando existe en ésta una mínima alteración es la alfa 1-lipoproteína, de peso molecular próximo a 200.000. Este paso anómalo determina una alteración en el ferograma con inversión de la relación entre las fracciones alfa 1 y alfa 2, inferior a la unidad en el sujeto normal, y que en estas circunstancias alcanza este valor o incluso lo supera. Del mismo modo se exagera la facilidad para el paso de IgG de peso molecular ligeramente superior a 150.000, componente habitual del l.c.r. como única inmunoglobulina, y que en estos casos de excesiva trasudación plasmática, no presenta ninguna peculiaridad, apareciendo en todas las técnicas con los caracteres habituales que ofrece dicha proteína en el suero.



Cuando la permeabilidad se altera en un grado más avanzado, se inicia el flujo plasma-l.c.r. de proteínas de movilidad alfa 2. Entre ellas, el fibrinógeno de peso molecular 341.000, y la alfa 2 macroglobulina cuyo peso es de 820.000. En estas circunstancias, el aspecto del l.c.r. por electro e inmunolectroforesis va progresivamente pareciéndose al suero. La relación alfa 1-alfa 2 nuevamente se hace inferior a la unidad por causa de la elevación simultánea de alfa 2. La cifra de gammaglobulina sigue elevándose considerablemente, y por otra parte, el aumento de la proteinorraquia exige una menor concentración previa del l.c.r. para su estudio, tendiendo a desaparecer la prealbúmina.

En un último grado, la barrera hematoencefálica permite el paso de IgM de peso molecular 1.000.000, y alfa 2 y beta lipoproteínas, con pesos respectivos 3.400.000 y 1.300.000, con lo cual el l.c.r. se convierte prácticamente en suero.

Este es el significado fisiopatológico de distintos grupos electroforéticos observados por algunos autores en el l.c.r. de enfermos en cuyo proceso patológico va incluida una anormal permeabilidad de la B.H.E. Tal es el caso de los "tipos alfa", "tipo alfa-gamma", etc., de Habeck (1960). Con criterio similar, Natzke y Clausen (1965), crean el concepto "rotura parcial de la barrera hematoencefálica", cuando en la inmunolectroforesis del l.c.r. las líneas de precipitación de alfa 2-lipoproteína y la alfa-2-macroglobulina son ostensibles.

Para Clausen, Dencker, Gilland y otros (1965), la lesión de la barrera hematoencefálica (B.H.E.) viene valorada por el aumento de alfa 2, expresada en inmunolectroforesis por la presencia de alfa 2-macroglobulina, alfa 2-lipoproteínas y fibrinógeno "que son proteínas de alto peso molecular, que no aparecen en el l.c.r. de individuos normales". También en estos casos, por el excesivo peso de IgG, se observa un aumento del cociente gamma l.c.r., gamma suero. Según dichos autores, estos hallazgos son inespecíficos de afecciones vasculares cerebrales, infecciones agudas y tumores, si bien los cambios reseñados se ven con más moderación en los procesos vasculares.

El interés práctico de los exámenes electro e inmunolectroforéticos en este tipo de procesos es muy limitado, si bien la importancia de los mismos es muy grande cuando se trata de conocer a fondo los mecanismos de filtración que sigue la barrera hematoencefálica, en sus distintos grados de alteración, bien sea de intensidad o de tiempo de evolución de los mismos.

Por un lado, los cuadros que más habitualmente producen las mencionadas alteraciones de B.H.E. suelen presentar un aspecto

clínico relativamente fácil de reconocer. Es el caso de meningitis, neoformaciones intracraneales o medulares, polirradiculoneuritis de Guillain-Barré, etc. Si a ello unimos que el examen clásico del l.c.r. acostumbra a dar informaciones fidedignas y típicas con escasa cantidad de muestra (elevación celular, disociación albúmino-citológica) es fácil comprender la carencia de interés diagnóstico de estos otros procedimientos más complejos. De ahí que en nuestro caso la casuística de tumores intracraneales con estas exploraciones en el l.c.r. sea casi inexistente por lo arriesgado de su extracción, que no queda justificada ante el enfermo por no proporcionar un dato de excepcional interés diagnóstico.

Sin embargo, en algunos casos, tiene importancia la práctica de una electroforesis del l.c.r. si se tiene en cuenta que sus alteraciones marchan no del todo paralelas en cuanto a cronología con las del examen clásico. Esto lo pudimos comprobar en nuestra experiencia en un caso de úveo-meningitis de Behcet, que refería haber padecido un reciente episodio meníngeo con importante elevación celular y cierto aumento de proteínas. En el momento en que fue visto por nosotros su l.c.r. mostraba una completa normalización en sus datos de rutina, mientras que su electroforesis denotaba indudablemente un perfil de "tipo trasudativo" que sirvió para dar objetividad a un incidente inflamatorio cuya naturaleza aguda ya había pasado. Esto mismo puede observarse en el síndrome de Guillain-Barré, en el que no es excepcional el hallazgo de unos datos en el l.c.r. normales, durante los primeros días e incluso hasta el primer mes de instaurado el cuadro clínico, y que el contrario presenta ciertas peculiaridades en su electroforesis, como después veremos.

En definitiva, el perfil electroforético trasudativo viene determinado por una serie de caracteres, que en forma única o agrupados según la intensidad del proceso patológico, se presentan con una fisonomía peculiar, a pesar de responder, como ya hemos dicho, a múltiples afecciones.

Estos caracteres son: a) Descenso de prealbúmina, llegando a desaparecer especialmente en los casos de hiperproteínorraquia considerable. b) Elevación de albúmina; ésta puede ser evidente, o quedar enmascarada por la irrupción de las distintas globulinas ya mencionadas que alteran el esquema proteico habitual, máxime teniendo en cuenta que estos exámenes realizados en el l.c.r. se traducen en cifras relativas. c) Inversión de la relación alfa 1-alfa 2. d) Aumento de ambas bandas alfa, con retorno a valores inferiores a uno de la relación anterior. e) Disminución o desaparición de la fracción tau. f) Aumento de gammaglobulina, de aspecto uniforme.

Intentar especificar la naturaleza del proceso patológico a través de un "perfil trasudativo" obtenido en el l.c.r. es una inútil tarea. Simplemente, la progresiva hiperproteinorraquia es expresión en estos casos de una sucesiva "mayor porosidad" de la B.H.E., con aparición de las alteraciones descritas, que por otra parte no se presentan en ocasiones más que aisladas, e incluso como única alteración puede verse una inversión alfa 1-alfa 2.

En lo que a patología tumoral se refiere es importante la casuística de Tveten (1965): en los tumores supratentoriales, este autor encuentra un l.c.r. ventricular dentro de la normalidad, y un l.c.r. espinal, con elevación de las proteínas totales, principalmente a expensas de albúmina y gammaglobulina. En los tumores infratentoriales, igualmente el l.c.r. ventricular es normal, mientras el lumbar muestra una proteinorraquia normal, si bien por electroforesis existe un aumento de alfa 1, superior en estos casos a la alfa 2 y elevación de gamma.

En una amplia serie de tumores cerebrales y medulares, Svennilson (1965), estudia la presencia de alfa 2-macroglobulina, beta 1-lipoproteína, fibrinógeno, IgM, IgA y componentes de alto peso molecular de IgG. Observa una mayor frecuencia en la aparición de dichas proteínas con relación a los casos normales, sin poder, a través de sus estudios, encontrar ninguna diferencia entre procesos malignos y benignos.

*Nuestra breve experiencia* en estos tipos de procesos se extiende a los siguientes casos (cuadro núm. 7).

CUADRO 7

Caso	Diagnóstico	Proteínas L.C.R. mg. %	Prealb.			Alfa 1		Alfa 2		Beta 1		Beta 2		Gamma		OBSERVACIONES
			$\alpha_1$	$\alpha_2$	Albúm.	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_1$	$\alpha_2$	
1	Compresión medular (tumor).	350	0,92	60,50	3,24	9,41	8,44	2,59	14,87	$\alpha_2/\alpha_1 = 2,90$	$\gamma/\beta = 1,348$	Gran descenso de prealbúmina.				
2	Bloqueo espinal. (aracnoiditis Tb).	4.700	0,58	58,38	2,05	5,80	6,23	1,25	25,68	$\alpha_2/\alpha_1 = 2,82$	$\gamma/\beta = 3,43$	Gran descenso de prealbúmina.				
3	Compresión medular (hernia disco cervical).	62	0,98	53,91	3,04	10,87	9,11	7,66	14,41	$\alpha_2/\alpha_1 = 3,57$	$\gamma/\beta = 0,859$	Gran descenso de prealbúmina. Ligero descenso de albúmina.				
4	Meningitis linfocitaria recidivante.	129	1,83	55,33	4,04	3,67	10,29	—	24,81	$\alpha_2/\alpha_1 = 0,908$	$\gamma/\beta = 2,41$	Gran descenso de prealbúmina. Ausencia de tau.				
5	Meningitis viral.	49	4,93	53,39	8,33	6,17	11,11	4,01	12,03	$\alpha_2/\alpha_1 = 0,740$	$\gamma/\beta = 0,796$	Ligero descenso de albúmina.				
6	Meningitis viral.	51	3,04	60,85	6,91	5,77	8,80	2,01	12,60	$\alpha_2/\alpha_1 = 0,835$	$\gamma/\beta = 1,16$	Ligero descenso de prealbúm.				
7	Uveo - meningitis (S. de Behçet).	32	2,29	63,27	3,60	6,88	9,18	1,96	12,78	$\alpha_2/\alpha_1 = 1,91$	$\gamma/\beta = 1,14$	Descenso de prealbúmina.				
8	Angioma de la vena de Galeno.	50	1,30	70,94	4,69	6,13	6,52	1,75	8,65	$\alpha_2/\alpha_1 = 1,30$	$\gamma/\beta = 1,04$	Gran descenso de prealbúmina. Aumento de albúmina.				

Caso	Diagnóstico	Proteínas L.C.R. mg. %	Prealb. %	Albúm. %	Alfa 1 %	Alfa 2 %	Beta 1 %	Beta 2 %	Gamma %	OBSERVACIONES
9	Astrocitoma cerebr.	50	7,96	57,87	6,96	4,65	8,12	3,42	10,98	$\alpha_3/\alpha_1 = 0,668$ $\gamma/\beta = 0,951$ Gran aumento de prealbúmina.
10	Encefalopatía tipo Wernicke. Diabet.	54	0,50	70,63	3,29	5,82	12,40	2,78	4,55	$\alpha_3/\alpha_1 = 1,76$ $\gamma/\beta = 0,229$ Aumento de albúmina. Gran descenso de prealbúmina.
11	Insuficiencia vascu- lar cerebral.	36	2,35	67,52	4,21	4,02	10,45	—	11,42	$\alpha_3/\alpha_1 = 0,954$ $\gamma/\beta = 1,092$ Descenso de prealbúmina. Aumento de albúmina. Ausencia de Tau.
12	Insuficiencia vascu- lar cerebral.	39	1,62	60,92	6,15	6,85	8,56	2,80	13,07	$\alpha_3/\alpha_1 = 1,11$ $\gamma/\beta = 1,15$ Gran descenso de prealbúmina.

Los casos 1, 2 y 4 fueron estudiados inmunolectroforéticamente por presentar las proteinorraquias más elevadas de la serie. Con esta finalidad separamos de un "pool" de suero humano las proteínas de más alto peso molecular, por medio de fraccionamiento cromatográfico en columna de Sephadex. El producto recogido mostraba por inmunolectroforesis frente a un suero anti-suero-humano-total, las líneas de precipitación correspondientes principalmente a alfa 2-macroglobulina y a IgM. Este extracto sirvió para la obtención de un inmunosuero frente a las mencionadas fracciones proteicas. Los l.c.r. de los tres enfermos fueron sometidos a inmunolectroforesis frente al extracto separado por cromatografía y en presencia del inmunosuero mencionado. Como control se utilizó l.c.r. de sujetos normales. En los casos 2 y 3 observamos la presencia patológica de proteínas alfa 2 de alto peso molecular; no fue así en el caso 1. En ninguno de los tres enfermos se observó la existencia de IgM en su l.c.r. Para mayor seguridad, repetimos el examen, esta vez en presencia de un inmunosuero comercial anti-IgM, confirmando los hallazgos anteriores. Sobre todo en el caso 2, con una proteinorraquia de 4,7 gramos por 100, nos resultó sorprendente la ausencia de IgM. Es posible que con técnicas más finas que la inmunolectroforesis pueda esta fracción ponerse de manifiesto, o que no hayan sido estos casos idóneos por su naturaleza para tal hallazgo, pero no deja de ser llamativo considerar el alto grado de alteración de la barrera hematoencefálica que es necesario para que pasen a su través las proteínas plasmáticas de más elevado peso molecular.

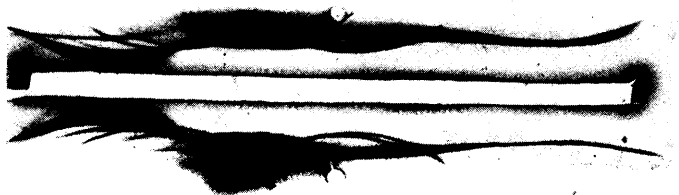


FIG. 31.—Caso número 2, de l.c.r. trasudativo. Inmunolectroforesis. Superior: suero humano normal. Inferior: l.c.r. problema. Centro: Suero de conejo anti-suero-humano-total. Similitud del l.c.r. trasudativo con respecto al suero humano.

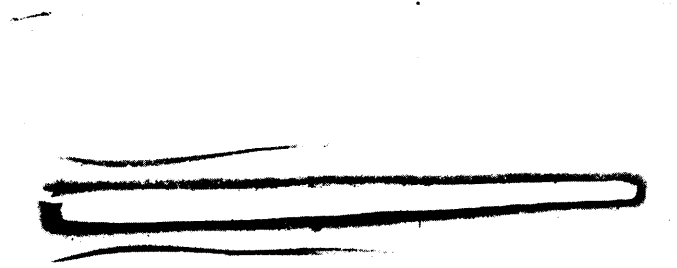


FIG. 32.—Caso número 2, de l.c.r. trasudativo. Inmunoelectroforesis. Superior: suero humano normal. Inferior: l.c.r. problema. Centro: suero de conejo anti-inmunoglobulinas. Similitud de las IgA e IgG en ambas muestras.

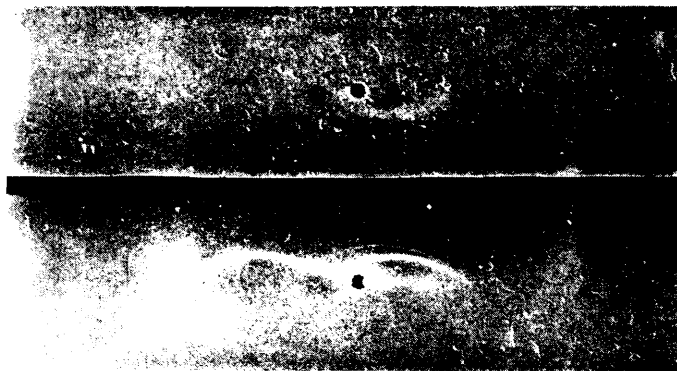


FIG. 33.—Caso número 2, de perfil trasudativo. Inmunoelectroforesis. Superior: l.c.r. problema. Inferior: extracto de proteínas de alto peso molecular obtenido por cromatografía en columna de Sephadex. Centro: suero de conejo anti-suero humano-total. Identidad en ambas muestras de proteínas de alto peso molecular de movilidad alfa 2-beta. Ausencia de IgM en el l.c.r. trasudativo.

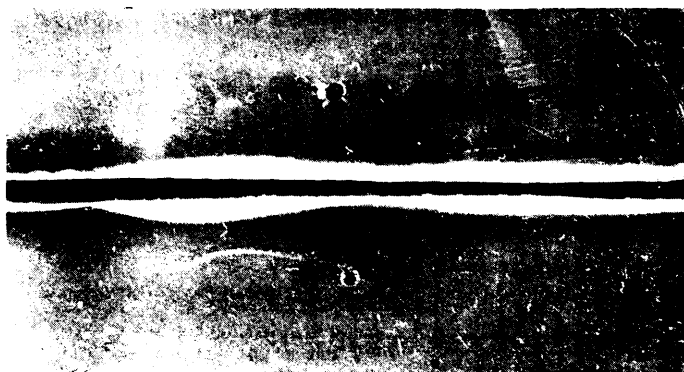


FIG. 34.—Caso número 2, de l.c.r. trasudativo. Inmunoelectroforesis. Superior: suero humano normal. Inferior: l.c.r. problema. Centro: suero de conejo anti-IgM. Ausencia de IgM en el l.c.r. trasudativo.

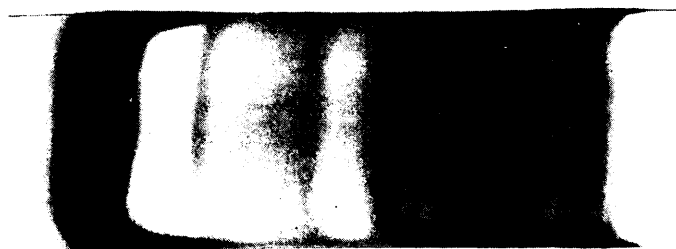


FIG. 35.—Caso número 1, de l.c.r. trasudativo. E.E.F. de l.c.r.





FIG. 36.—Caso número 2, de l.e.r. trasudativo. E.E.F. de l.e.r.



FIG. 37.—Caso número 3, de l.e.r. trasudativo. E.E.F. de l.e.r.



FIG. 38.—Caso número 4, de l.c.r. trasudativo. E.E.F. de l.c.r.

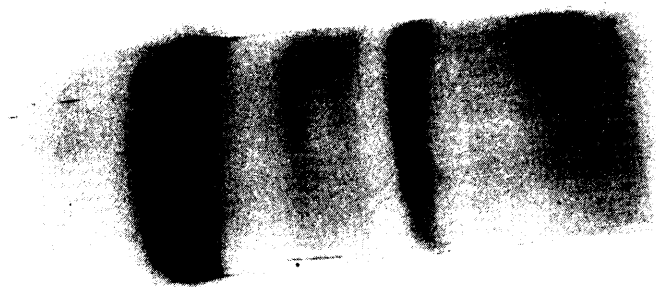


FIG. 39.—E.E.F. de l.c.r. correspondiente al caso número 6 trasudativo.

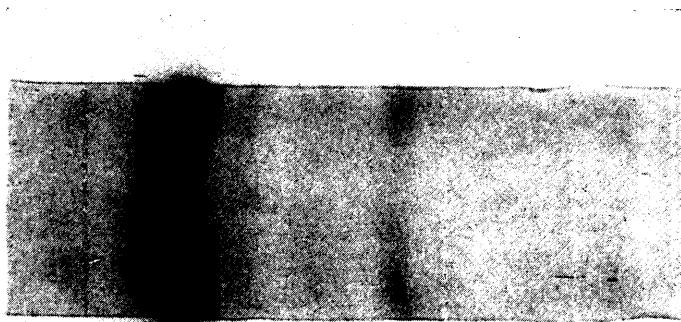


FIG. 40.—E.E.F. de l.c.r. correspondiente al caso número 7 trasudativo.

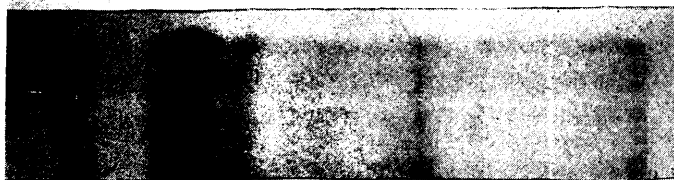


FIG. 41.—E.E.F. de l.c.r. correspondiente al caso número 9 trasudativo.

## **LAS PROTEINAS DEL L.C.R. EN EL SINDROME DE GUILLAIN-BARRE**



Hemos de advertir en primer lugar, que siguiendo la opinión actual de la mayoría de los autores, no consideramos la disociación albúmino-citológica en el l.c.r. de estos pacientes como criterio indispensable para la inclusión de un enfermo en el síndrome de Guillain-Barré, ya que, por otra parte, dicha polirradiculoneuritis aguda tiene una personalidad clínico-evolutiva suficientemente característica y, además, es conocido el hecho de que en ocasiones la disociación albúmino-citológica puede tardar un mes en aparecer después de haberse iniciado el cuadro clínico.

La reserva de este síndrome para un grupo aparte está basada en la observación unánime de ciertas particularidades electroforéticas que le hacen salirse en algunos aspectos del grupo general con perfil trasudativo. Dencker, Swahn y Ursing observan una elevación de inmunoglobulinas incluso con proteinorraquias normales, llevando este aumento una marcha paralela a la evolución de la enfermedad, con retorno a la normalidad a la par que el cuadro clínico. Clausen, Krogsgaard y Quaade (1962) observan que las proteínas del l.c.r. en el Guillain-Barré no son cualitativamente distintas a las proteínas séricas normales, y que la alteración más habitual en el l.c.r. está constituida por un aumento de inmunoglobulinas. Tampoco Ravn y Jensen (1965) encuentran diferencias cualitativas en las proteínas del l.c.r. de estos enfermos. Spina-Franca y Saraiva (1961) consideran en su experiencia que la elevación de proteínas en estos enfermos es a expensas de gammaglobulina.

No es tan radical la experiencia de Laterre (1965) quien, de 16 casos de Guillain-Barré, observa un perfil electroforético normal en cuatro casos, aumento de prealbúmina y betas en otro, en ocho casos un perfil trasudativo; y solamente en tres de ellos era el aumento de gammaglobulina lo más destacado, correspondiendo uno de estos casos a un cuadro de frecuentes recidivas y secuelas importantes.

Lowenthal (1968) ha estudiado 39 casos, observando que aproximadamente en la tercera parte de ellos existía un perfil electroforético normal. Otro tercio se caracterizaba principalmente por el aumento de proteínas de movilidad alfa 1 rápidas. Los casos

restantes mostraban fundamentalmente una elevación de gammaglobulina.

Nuestra experiencia (cuadro núm. 8) se compone de ocho, en los que su l.c.r. se ha estudiado en momentos tales que permiten componer una escala progresiva en cuanto a su evolutividad.

En todos ellos el hecho más llamativo y constante es la elevación de las cifras de gammaglobulina en su E.E.F., que no parece guardar una relación demasiado estrecha con el momento evolutivo de la enfermedad pero que sí permanece mientras ésta existe, como puede apreciarse en nuestros tres últimos casos, de manifiesta evolución tórpida. Es interesante constatar la marcada elevación que sostiene la gammaglobulina en nuestro caso número 6, al cabo de diez meses de evolución, siendo absolutamente normal la proteinorraquia, pero con persistencia de alguno de los fenómenos clínicos.

El resto de las particularidades entran dentro de las mencionadas en el tipo trasudativo de perfil electroforético, estando presentes una o varias de ellas en todos los casos estudiados. El descenso de prealbúmina se observa en forma constante, bien sea discreto, o con ausencia de dicha fracción como en el caso número 8. En otro enfermo (caso núm. 6) pudimos observar una importante inversión de la relación alfa 2/alfa 1, mientras existe una elevación de alfa 2 en los casos 1, 2, 3 y 5, acompañada en este último de elevación simultánea de alfa 1, lo que condicionaba una relación aparentemente normal entre ambas fracciones. La fracción beta 1 permanecía normal o elevada en todos los casos, a excepción de un descenso observado en el caso número 7. En todos nuestros enfermos existía una completa o casi total desaparición de la fracción tau.

CUADRO 8  
SINDROME DE GUILLAIN-BARRE

Caso	Tiempo de evolución	Proteínas mg. %	Células	Preclín.	Albúm.	Alfa 1 %	Alfa 2 %	Beta 1 %	Tau %	Gamma %	Relación Bergmann	Alfa 2/ Alfa 1
1	15 días	72	1	3,21	57,90	3,75	9,15	12,76	—	13,21	1,03	2,44
2	30 días	74	2	3,08	52,01	5,70	7,60 2,85	13,77	—	14,98	1,08	1,83
3	37 días	86	1	1,26	61,86	3,70	9,45	9,63	1,86	12,23	1,07	2,55
4	45 días	59	1	3,45	60,78	5,04	7,01	10,49	—	13,21	1,25	1,39
5	2 meses	96	1	1,85	45,37	8,69 1,86	1,98 6,95 2,48	9,68	1,59	19,50	1,73	1,08
6	10 meses	19	3	3,16	41,50	11,46	5,92	15,41	—	22,52	1,46	0,51
7	14 meses	104	1	1,19	71,66	3,18	4,60	6,00	—	13,35	2,22	1,44
8	2 años	84,5	2	—	45,79	5,44	6,18	14,10	—	28,46	2,01	1,13



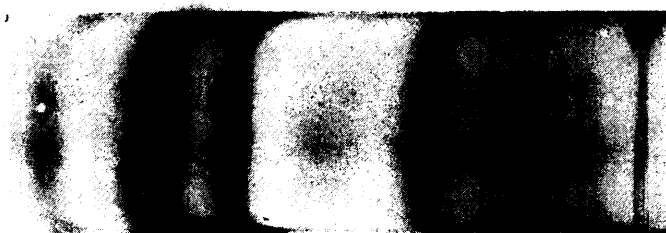


FIG. 42.—E.E.F. de l.e.r. correspondiente al caso número 6, de Guillain-Barré.

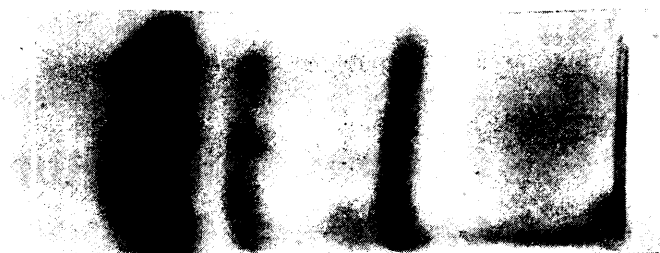


FIG. 43.—E.E.F. de l.e.r. correspondiente al caso número 7, de Guillain-Barré.

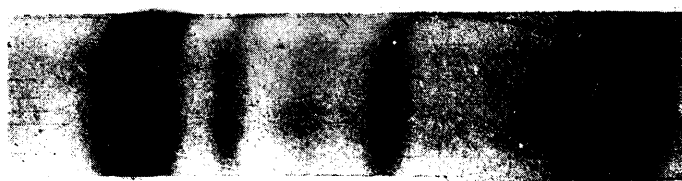


FIG. 44.—E.E.F. de l.c.r. correspondiente al caso número 8.  
de Guillain-Barré.



## **EL LLAMADO PERFIL DEGENERATIVO**



La existencia de un perfil "degenerativo" en el l.c.r. de cierta patología neurológica ha sido cuidadosamente individualizada por Laterre (1965) quedando ajustado a las siguientes características:

- a) Normalidad o ligero descenso de albúmina.
- b) Aumento de prealbúmina.
- c) Normalidad o ligero aumento de ambas alfa.
- d) Descenso de gammaglobulina.
- e) Lo más significativo es la anormalidad en el territorio beta, con aumento de ambas, en otras ocasiones fusión de beta 1 y tau en una gruesa banda, y finalmente pudiendo observarse un enlentecimiento de las mismas, con existencia de un par de bandas o una estela proteica entre tau y gamma.
- f) Presencia más frecuente de lo habitual de bandas de movilidad negativa, correspondientes a proteínas no plasmáticas.

Basado Laterre en el parecido de este perfil con el habitualmente encontrado en el l.c.r. ventricular, en la repercusión de la función de los plexos coroideos sobre la prealbúmina, y de la neuraminidasa sobre la fracción tau (ya expuestos en anteriores apartados), interpreta la existencia de este perfil "degenerativo" como consecuencia de estos tres mecanismos: 1) Hipofiltración plasmática a través de la B.H.E. 2) Concentración excesiva en proteínas de tipo tisular. 3) Degradación de glicoproteínas presentes en el l.c.r. Estos dos últimos fenómenos serían la consecuencia de una destrucción celular progresiva, que tendría lugar en el S.N.C. de determinadas afecciones neurológicas. Para este autor los procesos patológicos en los que aparece este perfil electroforético serían de tipo degenerativo, si bien esta expresión no pierde su ambigüedad al enunciar cada una de las enfermedades, ya que bajo ella incluye: "atrofias cerebrales y cerebelosas *difíciles de clasificar*, epilepsia, *ciertas neuropatías y encefalopatías*, varias observaciones de lo que se ha convenido en llamar arterioesclerosis y esclerosis cerebral, un cierto número de estados neuróticos y psicóticos, e incluso igualmente en cialgias aparentemente banales". Por otra parte, en la enumeración que el autor hace de las 112 obser-

vaciones que ha estudiado con este perfil, solamente a 33 de ellas les corresponde una auténtica enfermedad degenerativa, siendo las 79 restantes afecciones muy dispares, tales como tumores cerebrales, procesos infecciosos agudos, accidentes vasculares cerebrales, etc.

Por todo ello, aparte de la indudable minuciosidad que Laterre ha puesto en la individualización de este grupo, en parte por ser una traducción a la patología de algunas concepciones fisiológicas de este autor, es obvio que no parece tratarse de un perfil claramente específico de una afección o grupo patológico sistematizado y uniforme.

Con anterioridad, los trabajos de Esser (1952), Bauer (1953), Steger (1953), etc., habían establecido la relación entre el aumento de beta globulina y ciertas enfermedades neurológicas degenerativas (enfermedad de Alzheimer, atrofia cerebelosa, etc), y la producción intratecal de beta globulina en estas enfermedades había sido considerada por Geinert y Matiar (1959) y por Cervos-Navarro y Matiar (1959).

Por el contrario, Lowenthal (1964) no encuentra una relación entre el aumento de las beta globulinas y las afecciones neurológicas degenerativas.

#### OBSERVACIONES PERSONALES DEL PERFIL DEGENERATIVO

No hemos encontrado el típico perfil degenerativo en el l.c.r. de ninguno de nuestros casos utilizados como controles, si bien hemos podido observar esporádicamente discretas elevaciones de prealbúmina, de beta-globulina, etc., pero en modo alguno el conjunto de caracteres que Laterre atribuye a este perfil.

Hemos observado bandas de movilidad negativa en dos de nuestros casos normales.

El perfil degenerativo, con sus peculiaridades, lo hemos hallado en nueve enfermos, afectos respectivamente de: Heredodegeneración espinocerebelosa, tipo Friedreich (1), corea de Huntington (1), leucodistrofia (1), oftalmoplejía diabética (1), atrofia cerebelosa primaria (2), atrofia cerebelosa post-alcohólica (1), síndrome oculo-facial de Meyer (1) y polineuritis etílica (1).

## PERFIL DEGENERATIVO - OBSERVACIONES PERSONALES

Caso	Diagnóstico	Prealb. %	Albúm. %	Alfa 1 %	Alfa 2 %	Beta 1 %	Beta 2- Tau %	Gamma %	Post- Gamma %	Cociente Bergmann	Relación alfa 2/ alfa 1
1.—A.G.G.	Enfermedad de Friedreich.	9,63	47,87	4,20	6,49	13,39	9,67	8,74	—	0,379	1,54
2.—S.R.S.	Corea de Hun- tington.	7,21	56,58	3,16	5,70	13,25	7,01	7,07	—	0,348	1,80
3.—L.G.M.	Leucodistrofia.	11,80	44,30	6,62	9,10	12,42	6,62	6,83	2,27	0,353	1,37
4.—J.C.V.	Oftalmoplejía diabética.	3,92	58,37	2,09	7,32	14,13	6,02	8,11	—	0,402	3,50
5.—M.P.C.	Atrofia cerebelo- sa primaria.	6,47	47,48	6,11	8,27	13,30	8,99	9,35	—	0,419	1,35
6.—R.G.S.	Atrofia cerebelo- sa primaria.	10,25	50,54	2,01	8,42	13,18	7,69	5,82	2,05	0,278	4,18
7.—M.C.P.	Atrofia cerebelo- sa alcohólica.	8,38	47,19	5,90	7,71	17,86	6,96	5,99	—	0,241	1,30
8.—R.J.M.	S. óculo-facial de Meyer.	11,32	51,21	2,69	6,73	9,70	7,00	11,32	—	0,677	2,50
9.—F.S.R.	Polineuritis etfílica.	8,84	37,59	9,33	10,56	13,51	10,31	9,82	—	0,412	1,13



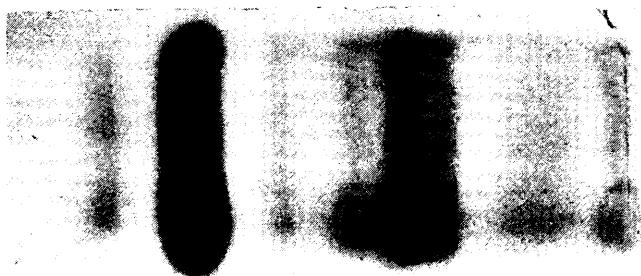


FIG. 45.—E.E.F. de l.c.r. correspondiente al caso número 5,  
de perfil degenerativo.

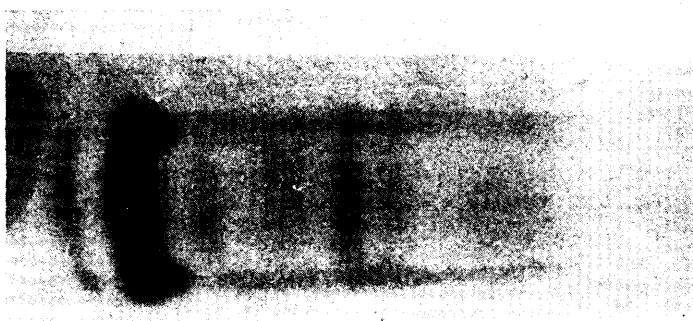


FIG. 46.—E.E.F. de l.c.r. correspondiente al caso número 1  
del cuadro número 9.

Los valores electroforéticos obtenidos en cada uno de los casos vienen expresados en el cuadro número 9.

Prácticamente, todas las enfermedades mencionadas en las que hemos obtenido un perfil de este tipo, responden a una naturaleza degenerativa, si bien volvemos a hacer la salvedad de lo impreciso del término. Por otra parte, alguno de los cuadros citados, tales como la oftalmoplejía diabética, serían difícilmente clasificables.

En todos los casos, a excepción del número 4, se observa un notable aumento de prealbúmina. La cifra de albúmina, salvo en los casos 2 y 4, queda en todos los restantes por debajo del valor mínimo normal en nuestra experiencia. Las fracciones alfas se encontraban normales o elevadas, bien en forma bilateral manteniendo una relación alfa 2/alfa 1 normal (como en los casos 3 y 9), bien en forma unilateral y relativa, sólo ostensible por un cociente alfa 2/alfa 1 superior a lo normal (casos 4 y 6). En ningún caso se observaba inversión de la relación habitual entre ambas alfa. Exceptuando los casos 3 y 8, todos los demás mostraron una elevación de beta 1; y todos los casos tenían una considerable elevación de las globulinas situadas en región beta 2-tau, especialmente en el caso número 9, donde es ostensible la existencia de una estela proteica que se inicia en beta 1, y que alcanza disminuyendo lentamente su intensidad, la región gamma.

Respecto a la fracción gamma se observa un descenso en su valor en los casos 2, 3, 6 y 7; los restantes se encontraban dentro de límites normales.

Hemos observado la presencia de bandas de movilidad electroforética inferior a cero en dos casos, correspondientes a los números 3 y 6.

La relación gamma-beta en l.c.r. (cociente de Bergmann) es inferior al valor mínimo normal en todos los casos, exceptuando el número 8, en el que el valor de gammaglobulina estaba próximo al límite superior de la normalidad.

En detrimento de la especificidad de este perfil, el l.c.r. de dos casos más de heredodegeneración de Friedreich fue absolutamente normal, e igualmente en otro caso de corea de Huntington (casos 1, 2 y 3 del cuadro número 10).

Por otra parte, han sido normales los l.c.r. de enfermos de otras afecciones degenerativas, tales como enfermedad de Parkinson, mielopatía postradioterapia, epilepsia mioclónica (E. de Lafora), un caso de síndrome de Bourneville, y dos casos de esclerosis lateral amiotrófica (casos 4, 5, 6, 10, 15 y 16 del cuadro número 10).

También en afecciones degenerativas, hemos observado como datos discordantes, al menos aparentemente, un aumento relativo de gammaglobulina e inversión de la relación de ambas alfa, en un caso de heredodegeneración del tipo Pierre-Marie, y elevación de gammaglobulina en sendos casos, de síndrome de Bourneville y leucodistrofia, respectivamente. (Casos 7, 8 y 9 del cuadro número 10.)

**ELECTROFORESIS DEL L.C.R. EN OTRAS  
AFECCIONES NEUROLÓGICAS**



Existen algunas afecciones que muestran alteraciones típicas en el l.c.r. de los enfermos que las padecen, y que nosotros no hemos tenido ocasión de estudiar, unas veces en razón de su ausencia o extraordinaria rareza con que aparecen en nuestro ambiente, y otras —como la toxoplasmosis— que añaden el problema de un difícil manejo de la muestra en el laboratorio.

En el l.c.r. de la toxoplasmosis, existe un aumento de gammaglobulina, mencionado por primera vez por Habeck (1961).

Del mismo modo, existe un considerable aumento de gammaglobulina en el l.c.r. de los enfermos de tripanosomiasis africana, hecho observado por Janssen y cols. (1958) y por Lowenthal y cols. (1960).

El l.c.r. de enfermos de cisticercosis cerebral ha sido estudiado por Spina-Franca (1960), encontrando también un aumento selectivo de gammaglobulina.

En el resto de la patología neurológica, no descrita en los apartados anteriores, no existe unanimidad de hallazgos en la literatura, observándose casos esporádicos normales y patológicos en los que se refiere al E.E.F. del l.c.r. Nuestra experiencia queda expresada en el cuadro número 10, del que solamente pasamos a considerar aquellos casos con caracteres que no han sido comentados en ninguno de los capítulos anteriores.

Caso 11: Corresponde a una niña de cuatro años, afecta de un síndrome demencial del que no se pudo filiar la etiología, por falta de colaboración familiar, y en cuyo l.c.r. observamos un aumento importantísimo de prealbúmina, e inversión de la relación entre ambas alfa.

Caso 12: Se trataba de un interesante cuadro en un niño de diez años que presentaba una historia de dos años de evolución de un proceso demencial, asociado a un síndrome extrapiramidal de aspecto parkinsoniano. El E.E.F. y la neumoencefalografía eran normales, y no pudo continuarse el estudio por motivos familiares. El l.c.r. mostró un aumento de gammaglobulina, junto a un descenso de albúmina, y elevación de alfa 1.

Caso 13: Hemiatrofia cerebral, de etiología perinatal, siendo normal el estudio del l.c.r.

Caso 14: Síndrome poliomiósítico, como manifestación inicial de un carcinoma bronquial. En el l.c.r. de este enfermo, observamos un aumento de ambas fracciones alfa, así como elevación de gammaglobulina.

Caso 17: Corresponde a un enfermo arterioescleroso, con episodios repetidos de insuficiencia vascular transitoria. Su l.c.r. no mostró ninguna alteración.

Caso: 18: Neuralgia amiotrófica de distribución escapular típica. L.c.r. normal.

Caso 19: Enfermo que padecía crisis psicomotoras, con signos focales irritativos en el E.E.F., y cuyos exámenes neurorradiológicos fueron negativos. No observamos ninguna alteración en la electroforesis del l.c.r.

Caso 20: Crisis típicamente jacksonianas en un adulto joven que mostró una importante atrofia cerebral. En su l.c.r. comprobamos un descenso de albúmina con elevación de alfa 2, beta 1 y gammaglobulina, así como ausencia de fracción tau.

Caso 21: Se trataba de un caso de síndrome Ataxia-Telangiectasia de excepcional interés por presentar ausencia de IgG en el suero. Es la única observación de esta variedad existente en la literatura, habiendo sido objeto de una publicación por nuestra parte (Gimeno, Liaño y Kreisler, 1968). En este caso, el E.E.F. del l.c.r. mostró la existencia de una pequeña proporción de gammaglobulina, que por inmunoelectroforesis correspondía a IgA, de la que la enferma contenía en exceso en su suero, mostrando la ausencia de IgG en su l.c.r. En este caso, por inmunoelectroforesis y utilizando suero de conejo anti-l.c.r. humano completo, pudimos observar la existencia de una línea de precipitación en el l.c.r. de la enferma, que no existía en el caso control, y que se encontraba situada a nivel de la zona de precipitación de la IgG, sin que podamos asegurar la proteína de que se trataba, pero en todo caso era ésta una proteína específica del l.c.r. y probablemente no era IgG.

## ELECTROFORESIS DEL L.C.R. EN OTRAS AFECIONES NEUROLÓGICAS

Caso	Diagnóstico	Prealb. %	Albúm. %	Alfa 1 %	Alfa 2 %	Beta 1 %	Beta 2- Tau %	Gamma %	Relación Bergmann
1.—C.P.M.	E. de Friedreich ... ..	5,01	61,56	3,52	6,27	10,58	4,01	9,01	0,617
2.—P.G.C.	E. de Friedreich ... ..	4,88	61,84	5,04	6,16	9,67	4,40	7,99	0,552
3.—A.N.F.	Corea de Huntington ... ..	4,23	61,80	3,13	5,62	11,41	4,62	9,16	0,571
4.—S.S.G.	E. de Parkinson ... ..	4,26	60,27	4,79	6,80	10,14	5,25	8,47	0,550
5.—R.G.N.	Mielopatía post-radioterapia ...	3,81	62,18	4,83	6,31	9,85	4,03	8,98	0,646
6.—P.G.A.	Epilepsia mioclónica ... ..	3,17	59,55	4,98	7,46	10,52	4,21	10,10	0,685
7.—L.C.B.	E. de Pierre-Marie ... ..	4,64	69,37	4,55	3,63	5,80	2,46	9,52	1,152
8.—M.S.G.	S. de Bourneville ... ..	5,01	52,36	6,16	7,52	10,56	5,29	13,09	0,825
9.—E.I.L.	Leucodistrofia ... ..	5,59	45,93	7,95	9,08	12,50	—	18,92	1,513
10.—A.G.S.	Síndrome de Bourneville ... ..	6,19	59,91	4,61	6,02	11,81	3,06	8,37	0,562
11.—A.G.C.	Demencia infantil ... ..	11,34	51,98	5,27	3,88	10,83	6,11	10,55	0,622
12.—C.P.G.	No filiado ... ..	3,30	50,94	7,69	8,13	9,52	4,75	15,65	1,096
13.—A.R.G.	Hemiatrofia cerebral ... ..	4,01	61,22	3,65	5,72	10,81	5,02	9,54	0,602
14.—I.S.I.	Síndrome paraneoplásico ... ..	5,49	44,31	7,05	9,80	10,60	4,12	18,60	1,263
15.—J.G.A.	Esclerosis lateral amiotrófica ...	5,07	61,03	2,54	6,16	11,75	4,11	9,32	0,577
16.—M.G.E.	Esclerosis lateral amiotrófica ...	5,08	61,81	3,92	5,49	11,40	4,03	8,33	0,539
17.—J.F.S.	Arteriosclerosis cerebral... ..	4,30	61,72	3,63	5,40	10,11	5,04	9,00	0,594
18.—A.G.E.	Neuralgia amiotrófica... ..	4,30	60,94	3,69	5,13	10,52	5,75	9,65	0,593
19.—C.E.T.	Epilepsia focal ... ..	4,27	60,26	3,79	6,80	11,37	3,24	10,25	0,701
20.—N.S.A.	Epilepsia focal ... ..	5,14	52,18	4,37	10,02	13,11	—	15,16	1,156
21.—A.L.L.	Ataxia-telangiectasia ... ..	3,28	69,49	3,89	5,63	15,63	—	2,05	0,131



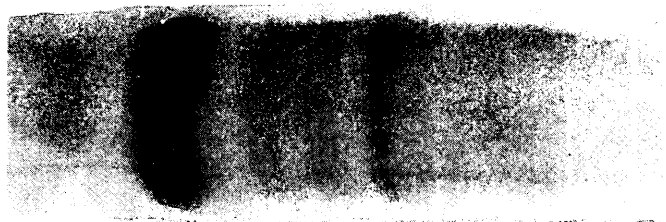


FIG. 47.—E.E.F. del l.c.r. correspondiente al caso número 14  
del cuadro número 10.



FIG. 48.—E.E.F. de l.c.r. correspondiente al caso número 21  
del cuadro número 10.

## **RESUMEN Y CONCLUSIONES**



#### A) PROTEÍNAS DEL L.C.R. EN EL INDIVIDUO NORMAL.

1. Se realiza el estudio electroforético de las proteínas del l.c.r. en 100 individuos controles.

2. La necesaria *concentración* del l.c.r. para sus exámenes posteriores, constituye el más grave de los problemas técnicos. Son utópicas las propuestas de algunos autores, en lo que concierne a la "standardización" de una muestra de idéntico contenido proteico. En el presente trabajo se acepta para concentración la filtración a través de membrana de colodión. Se introduce una modificación en el sistema de concentración con el fin de conocer, en forma aproximada, la cantidad de l.c.r. existente en el interior de la bolsa de colodión en cada momento.

3. Previamente a la concentración, *se libera al l.c.r. de sus impurezas* mediante filtración a través de filtros de porosidad de 0,60 a 0,85 micras, lo que además permite realizar simultáneamente el estudio citológico del mismo cuando se precise.

4. En lo concerniente al *sustrato de electroforesis* se revisa el estado actual de los criterios en cuanto a las cualidades de cada uno de ellos, aceptándose para el trabajo el acetato de celulosa gelatinizado.

5. Son analizadas las características de los distintos *colorantes* utilizables, aceptándose al amido-negro por razones de homogeneidad en la casuística.

6. La *lectura* de las tiras de electroforesis se realiza por densitometría en sistema de reflexión. Se consideran las dificultades que en ocasiones surgen por la desproporción cuantitativa entre albúmina y globulinas, y se comentan los sistemas de corrección aplicables.

7. Se describe la *técnica de electroforesis* empleada, que tiene lugar en cubeta horizontal, a voltaje constante de 150 voltios y durante una hora y tres cuartos de paso de corriente. Se emplea un buffer de veronal sódico de pH 8,6 y fuerza iónica 0,075.

8. Como *técnica de inmunoelectroforesis* se utiliza la de Grabar y Williams.

9. En determinadas facetas de este trabajo es empleada la *técnica de doble difusión en agar*, según método de Cuchterlony.

10. Las *características diferenciales del l.c.r. normal respecto al suero normal* por electroforesis, son fundamentalmente las siguientes: Banda de prealbúmina superior en el l.c.r. Banda más débil de alfa 2 en el l.c.r. Aparición en este mismo fluido de una banda denominada tau, de movilidad inferior a la beta 2 sérica. Esta última solamente aparece en el 28 por 100 de los casos. Banda de gammaglobulina mucho más débil que la del suero.

En dos ocasiones se observa la presencia de bandas de movilidad electroforética negativa.

El l.c.r. cisternal es similar al obtenido por vía lumbar. El l.c.r. de origen ventricular se caracteriza por ser más hipoproteico y por observarse en su espectro una tasa superior en prealbúmina y tau.

11. Los *valores medios porcentuales* en la población normal estudiada son:

Prealbúmina ... ..	5.375 ± 1.602 %
Albúmina ... ..	60.635 ± 4.180 %
Alfa 1 ... ..	3.820 ± 1.928 %
Alfa 2 ... ..	6.160 ± 2.580 %
Beta 1 ... ..	10.320 ± 2.080 %
Tau ... ..	4.090 ± 1.510 %
Gamma ... ..	9.565 ± 2.046 %

Se comentan estos datos en relación a los proporcionados por la experiencia de otros autores.

12. Se estudia la repercusión que puede tener en los valores electroforéticos el grado de concentración del l.c.r., observándose:  
a) Que el valor relativo de prealbúmina aumenta con la intensidad de la concentración. b) Que la concentración deficiente repercute esencialmente sobre las alfa. c) Que las beta y gamma permanecen precisas, siendo ésta la base del interés práctico del cociente de Bergmann.

13. El valor medio del *cociente de Bergmann* en los 100 casos normales es de  $0,664 \pm 0,165$ .

14. Se comenta el concepto de *movilidad relativa* de las proteínas y las características que en ese sentido presentan las del l.c.r. respecto a las del suero.

Las movilidades obtenidas en el presente trabajo son:

Prealbúmina ... ..	1,200
Albúmina ... ..	1,000
Alfa 1 ... ..	0,800
Alfa 2 ... ..	0,616
Beta 1 ... ..	0,466
Beta 2 ... ..	0,400
Tau ... ..	0,356
Gamma ... ..	0,116

15. Se revisan las propiedades de cada una de las *proteínas plasmáticas* presentes en el l.c.r. normal, haciendo hincapié en los siguientes puntos: a) Origen de prealbúmina: Se concluye considerándola idéntica a la del suero y procedente de éste; debiendo su porcentaje superior en el l.c.r., probablemente a un artefacto en la concentración a que este fluido es sometido, y en parte a una selectividad en su paso a través de la barrera hematoencefálica. b) Naturaleza de la fracción tau: Se trata de transferrina enlentecida por la acción de la neurominidasa cerebral, que determina la pérdida progresiva de unidades de ácido siálico de la transferrina, causa de la variación en su movilidad electroforética. c) Movilidad de tipo medio adoptada por la IgG en E.E.F. e inmunoelectroforesis: Es un artefacto ocasionado por la deficiente concentración a que es preciso someter el l.c.r. para su correcto examen, existiendo una frecuencia del 100 por 100 en la aparición de las subfracciones de gammaglobulina, a excepción de la gamma 5, cuando el l.c.r. es concentrado a un grado elevadísimo.

16. Con el fin de demostrar la existencia de supuestas *proteínas de origen no plasmático* en el l.c.r. normal, se describe la inmunización de animales de experimentación con un "pool" de l.c.r. de sujetos normales. La técnica de Ouchterlony muestra la existencia de dos proteínas no plasmáticas existentes en el l.c.r. del individuo normal. Se hace una revisión de los hallazgos de otros en este sentido.

## B) PROTEÍNAS DEL L.C.R. EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE.

1. Se realiza una revisión de la literatura al respecto, siendo unánime la observación electroforética, con una frecuencia variable pero elevada, de un aumento de gammaglobulina en el l.c.r. de estos enfermos. En el momento actual los problemas plantea-

dos al respecto se centran en: *a)* aspecto cualitativo de esta gammaglobulina cuantitativamente anormal. *b)* Identidad o no con la del suero de estos mismos enfermos y sobre todo con la del l.c.r. normal. *c)* Origen de esta hipergammaglobulinorraquia.

2. Se practica el estudio de 50 enfermos de esclerosis múltiple, tomando en consideración en cada caso: *a)* Edad, sexo, duración de la enfermedad y tipo de evolución y fase de la misma en el momento del estudio. *b)* Localización lesional. *c)* Categoría de diagnóstico clínico, establecida de acuerdo con los criterios de Allison (1960), con ligeras modificaciones personales. *d)* Examen habitual del l.c.r. y categorías del mismo, en cuanto a lo significativo de sus datos en relación al diagnóstico. *e)* Examen electroforético del l.c.r., considerando del mismo los valores porcentuales de las fracciones separadas, las relaciones gamma l.c.r./beta l.c.r. y alfa 2/alfa 1, y la movilidad relativa de la gammaglobulina. *f)* Examen electroforético del suero teniendo en cuenta los valores porcentuales y la relación gamma l.c.r./gamma sérica.

3. Se obtienen las siguientes observaciones: I) Es muy positivo el E.E.F. del l.c.r. en un 81 por 100 de los exámenes, mientras que la curva de oro coloidal solamente lo es en un 75 por 100. El E.E.F. es dudosamente positivo en un 2 por 100, y la curva coloidal en el 15 por 100. Se obtiene un E.E.F. normal, o inespecífico en el 16 por 100 de los exámenes, por un 17 por 100 de igual significación en la curva coloidal. Nunca se encuentra un E.E.F. atípico, mientras que esto sucede en un 9 por 100 de exámenes, de oro coloidal. II) Nunca en un mismo examen es negativo el E.E.F. de l.c.r. y positiva la curva de oro coloidal. III) No existe ninguna relación entre sí de los casos con resultado negativo en el E.E.F. del l.c.r. IV) No observamos relación entre la cantidad de gammaglobulina en el E.E.F. de l.c.r., y el tiempo de evolución, localización lesional, número de brotes padecidos y tipo de movilidad de esta gammaglobulina. V) No se observa relación entre la frecuencia de aparición de las sufracciones de gammaglobulina en su l.c.r., y la cantidad de gammaglobulina en el mismo, o la categoría de diagnóstico clínico de cada caso. VI) Se observa una progresiva elevación del cociente de Bergmann conforme la garantía del diagnóstico clínico es más evidente, siendo más alto en las formas típicas, seguido de las muy probables y posibles. VII) La movilidad electroforética general en la gammaglobulina del l.c.r. de la esclerosis múltiple, muestra un predominio de las subfracciones medias, con tendencia a la aparición de subfracciones lentas con mayor frecuencia que en el sujeto normal. VIII) En líneas generales, no se observan alteraciones significativas en el E.E.F. de las proteínas séricas de los enfermos de esclerosis múltiple.

4. Se estudia el comportamiento antigénico de la gammaglobulina en la esclerosis múltiple. Con esta finalidad se procede a la obtención de un inmunosuero anti-l.c.r. de esclerosis múltiple, mediante la inmunización de animales de experimentación, con un "pool" de suero humano normal privado de la fracción IgG mediante una columna de DEAE-celulosa. Se ponen en contacto ambos productos, y se mezcla con un "pool" de l.c.r. de enfermos de esclerosis múltiple, no observándose la existencia de proteína alguna, por las técnicas habituales de inmunoelectroforesis ni por inmunodifusión radical.

5.—En el l.c.r. de estos enfermos se demuestra la existencia de dos proteínas no plasmáticas idénticas a las demostradas en el l.c.r. de los sujetos normales.

#### C) PROTEÍNAS DEL L.C.R. EN LA NEUROLÚES.

Se estudian seis casos, en los cuales las reacciones específicas de lúes eran positivas. El examen clásico del l.c.r. aporta datos insuficientes para su contribución al diagnóstico.

Dos casos de tabes dorsal muestran una moderada elevación de gammaglobulina de movilidad rápida preferentemente, con aumento de prealbúmina y tau.

Dos l.c.r. pertenecientes a lúes meningo-vascular, muestran importante aumento de gammaglobulina con movilidad rápida, así como descenso discreto de prealbúmina de tau.

En dos enfermos afectados de parálisis general progresiva, se observa igualmente aumento de gammaglobulina, de movilidad rápida en uno de ellos y de tipo medio-lento en el otro.

Se revisa la literatura al respecto.

#### D) PROTEÍNAS DEL L.C.R. EN LA PANENCEFALITIS ESCLEROSANTE SUBAGUDA.

1. Se realiza un estudio de la situación de los criterios en torno a esta interesante afectación infantil, de la mayor actualidad, ya que el número de casos relatados es progresivamente más elevado, paralelamente a un interés unánime en la adquisición de datos etiopatogénicos aún mal conocidos.

2. Se presentan nueve casos de panencefalitis esclerosante subaguda realizando un estudio clínico-biológico, con especial interés en las proteínas del l.c.r.



3. El examen clásico del l.c.r. en estos enfermos muestran en cinco de los casos una marcada desviación a la izquierda de la curva de oro coloidal, siendo en general normales o con una muy discreta disociación albúmino-citológica el resto de los datos.

4. Los valores porcentuales de la electroforesis practicada en l.c.r. a todos los casos muestran una hipergammaglobulinorraquia, a expensas del descenso de otras fracciones.

5. No se observan datos valorables en el sentido de alteración de la barrera hematoencefálica.

6. La gammaglobulina de estos enfermos muestran una tendencia manifiesta al predominio de sus subfracciones lentas, sin que en nuestros casos se observen relación entre el número y distribución de los gradientes y la fase clínico-evolutiva de la enfermedad.

7. Se realiza estudio inmunolectroforético en ocho de los enfermos, encontrando en todos los casos anomalías típicas en la morfología de la línea de precipitación correspondiente a la IgG, y en uno de ellos una doble línea en el extremo catódico de dicha inmunoglobulina.

8. Las proteínas aparentemente no-plasmáticas existentes en el l.c.r. de los sujetos normales se encuentran con las mismas características en el l.c.r. de los enfermos de panencefalitis.

#### E) PERFIL TRASUDATIVO DEL L.C.R.

Se agrupan bajo esta denominación las imágenes de l.c.r. que tienden a parecerse por electroforesis e inmunolectroforesis a las del suero por excesiva trasudación plasmática.

La barrera hematoencefálica alterada en forma inespecífica, permite el paso a su través de proteínas de peso molecular superior a 150.000, cifra media que viene a marcar el tope para el flujo plasma-l.c.r. en condiciones normales.

Se estudian las condiciones y mecanismos en virtud de los cuales las proteínas plasmáticas de alto peso molecular irrumpen intratecalmente, utilizando los datos de la literatura al respecto y la experiencia de doce casos de afecciones neurológicas determinantes de aumento inespecífico de permeabilidad de la barrera hematoencefálica.

El perfil trasudativo viene caracterizado electroforéticamente por:

- 1) Descenso de prealbúmina.

- 2) Elevación de albúmina.
- 3) Inversión de la relación entre ambas alfa, o aumento de ambas alfa, con retorno a valores inferiores a la unidad de la relación anterior.
- 4) Disminución o desaparición de la fracción tau.
- 5) Aumento de gammaglobulina de aspecto uniforme.

#### F) PROTEÍNAS DEL L.C.R. EN EL SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ.

Se revisa la literatura al respecto, y se aportan ocho casos estudiados según una escala de progresiva evolutividad en el tiempo.

Es llamativo que, junto a caracteres comunes a los concernientes al perfil trasudativo, el l.c.r. de tales enfermos muestra una marcada tendencia al aumento de gammaglobulina, que mantiene sus valores elevados, incluso con proteinorraquias normales, en casos de evolución clínica tórpida.

#### G) PERFIL DEGENERATIVO.

Se hacen consideraciones en torno a este perfil, identificado por Laterre (1965), y caracterizado principalmente por una elevación de prealbúmina, descenso de gammaglobulina y aumento de ambas beta, apareciendo en el mismo con mayor frecuencia de la habitual bandas de movilidad electroforética inferior a cero.

Se comentan nueve casos en los cuales se ha podido observar este tipo de perfil, y en detrimento de la especificidad del mismo se revisan otros enfermos de afecciones degenerativas, y en los que su l.c.r. no ha mostrado este tipo de perfil.

H) Finalmente se realiza el estudio panorámico de una miscelánea de enfermedades neurológicas, en la mayoría de las cuales no existen datos específicos en los exámenes electroforéticos. Se comentan los casos más interesantes, y la situación actual de otros autores en lo concerniente a tales afecciones.



## **BIBLIOGRAFIA**



1. ALBERCA, R.; LIAÑO, H.; MIRAVET, J., y GIMENO, A.: "Leucoencefalitis esclerosante subaguda. Sobre las formas predominantemente demenciales". *Rev. Clin. Esp.*, 106, 2, 120-125, 1967.
2. ALY, F. W.: "Untersuchungen über die elektrophoretisch isolierte Vorfraktion aus Liquor cerebrospinalis". *Biochem. Z.*, 325, 505-514, 1954.
3. ALY, F. W.: *Zur Frage der Identität des Präalbumin im Serum und der Vorfraktion im Liquor*. In Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin, Kongress 1957, Bergmann, München, p. 689, 1967.
4. ALLEGGRANZA, A., y MAROBIO, C.: "Agar electrophoresis of rat whole brain soluble proteins". *Ital. J. Biochem.*, 9, 329-340, 1960.
5. ALLEGGRANZA, A., y MAROBIO, C.: "Agar electrophoresis of rat and human brain soluble proteins". *Wld. Neurol.*, 3, 316-325, 1962.
6. ALLISON, R. S.: "Clinical classification of multiple sclerosis". World Federation of Neurology. *Geomedical Bulletin*. Appendix I. Section 4, 1960.
7. BAUER, H.: "Über die Bedeutung der Papierelektrophorese des Liquors für die Klinische Forschung". *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 170, 381-401, 1953.
8. BAUER, H.: "Zur Frage der Identität der Liquorproteine mit den Eiweisskörpern des Blutserums. I. Besonderheiten der Liquorproteine hinsichtlich der Vorfraktion, der gamma-Globuline und der protein-gebundenen Lipide". *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 175, 354-377, 1956.
9. BÉLANGER, CL.; LAROCHE, FR.; POUDRIER, C., y DE-L. MARTIN, J.: "Etudes sur le liquide céphalo-rachidien par l'électrophorèse sur papier". *Laval med.*, 33, 797-801, 1962.
10. BERGMANN, L.: "The value of CSF-analysis in the diagnosis of MS", *Acta neurol. scand.*, 41, 559-561, 1965.
11. BERGMANN, L.; GILLAND, O.; OLANDERS, S., y SVENNERHOLM, L.: "Clinical profile and paper electrophoresis in multiple sclerosis". *Acta Neurol. Scand.*, 40, suppl. 10, 33, 1964.
12. BERNSOHN, J.; BARRON, K. D., y HESS, A. R.: "Separation of brain proteins by starch gel electrophoresis". *Proc. Soc. exp. Biol.*, 107, 773-775, 1961.
13. BIAGINI, R., RADICCHI, M.: "Electrophoretic study of the CSF and of the blood in subjects affected with cerebral syphilis". *Rass. Studi psichiat.*, 44, 5, 674-686, 1955.

14. BING, J., y PLUM, P.: "Serum proteins in leukopenia. Contribution on the question about place of formation of serum proteins". *Acta med. scand.*, 92, 415-428, 1937.
15. BISCHOFF, A.: "Der derzeitige stand der Liquorcytodiagnostik". *Schweiz. med. Wschr.*, 90, 479-487, 1960.
16. BISCHOFF, A.: "Das Vorkommen van plasmazellen im liquor cerebrospinalis bei der Multiplen sklerose". *Dtsch Z. Nervenheilk.*, 185, 606-617, 1964.
17. BJORNEBOE, M., y GORMSEN, H.: "Untersuchungen über das Vorkommen von Plasmazellen bei experimenteller Hyperglobulinämie beim Kaninchen". *Klin. Wschr.*, 20, 314-316, 1941.
18. BLAU, J. N.; HARRIS, H., y ROBSON, E. B.: "Haptoglobins in cerebrospinal fluid". *Clin. Chim. Acta.*, 8, 202-206, 1963.
19. BLOCK, R. J.; DURRUM, E. L., y ZWEIG, G.: *A manual of paper chromatography and paper electrophoresis*. Acad. Press Inc. Publisher, New York. p. 554, 1958.
20. BOOIJ, J.: "Electrophoresis in CSF proteins". *Folia psychiat. neerl.*, 52, 3, 247-253, 1949.
21. BOOIJ, J.: "Electrophoresis in CSF proteins". *Folia psychiat. neerl.*, 53, 3, 502-508, 1950.
22. BOOIJ, J.: "Electrophoresis in CSF proteins (gamma-globulins in particular)". *Folia psychiat. neerl.*, 55, 2, 1-15, 1952.
23. BOOIJ, J.: *The electrophoretic protein pattern of the cerebrospinal fluid*. Proceedings of the 4 th Colloquium, Brujas, 1956, De Tempel, Brujas, p. 92, 1956.
24. BOOIJ, J.: "The origin of the pre-albumin in the cerebrospinal fluid". *Folia psychiat. neerl.*, 61, 20-26, 1958.
25. BOOIJ, J.: "The CSF aspects in leuco-encephalitis". *Folia psychiat. neerl.*, 61, 352-366, 1958.
26. BRACKENRIDGE, C. J.: "Cerebrospinal fluid protein fractions in health and disease". *J. clin. Path.*, 15, 206-210, 1962.
27. BRONSEN, D.; KAPLITZ, S. E.; ADE, R. D., y DUBIN, A.: "The spinal fluid proteins in cerebrovascular disease". *Amer. J. med. Sci.*, 224, 92-96, 1962.
28. BRONSKY, D.; KAPLITZ, S. E.; MUCI, J.; DUBIN, A., y CHESROW, E. J.: "Electrophoretic partition of cerebrospinal fluid and serum proteins in multiple sclerosis". *J. Lab. clin. Med.*, 56, 382-390, 1960.
29. BÜCHER, T.; MATZELT, D., y PETTE, D.: "Papier-elektrophorese von Liquor cerebrospinalis". *Klin. Wschr.*, 30, 325-330, 1952.
30. BURTIN, P.: "Etude sur les protéines du liquide céphalo-rachidien". *Clin. chim. Acta.*, 4, 72-78, 1959.
31. BURTIN, P.: *Les protéines du liquide céphalo-rachidien*. In: P. Grabar et P. Burtin. *Analyse Immuno-électrophorétique*, Masson, Paris, página 245, 1960.
32. BURROVS, S.: "Simple method for concentration of cerebrospinal fluid for protein electrophoresis". *Clin Chem.*, 11, 1068-1069, 1965.
33. CAMPOS, J.: "La patología de las proteínas del l.c.r.: su estudio mediante la electroforesis sobre gel de agar-agar". *Archivos de Neurobiología*, XXXII, núm. 4, 655-680, 1969.
34. CANAL, N.: "L'elettroforesi su gel di agar del liquido cefalo-rachidiano. Indagini sul significato delle variazioni delle frazioni alfa-globuliniche in varie condizioni patologiche". *Sist. Nerv.*, 14, 77-89, 1962.

35. CASPARY, E. A.: "Comparison of immunological specificity of gamma globulin in the cerebrospinal fluid in normal and multiple sclerosis subjects". *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 28, 61-64, 1965.
36. CERVOS-NAVARRO, J., y MATIAR, H.: "Zur Frage der intrathekalen Regulation und Genese der Liquorproteine". *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 179, 614-638, 1959.
37. CLAUSEN, J.: "The serum proteins in normal and pathological spinal fluids". *Acta psychiat. scand.*, 35, 11-22, 1960.
38. CLAUSEN, J.: "Immunoelectrophoretic investigations of normal and pathologic cerebrospinal fluids. Their correlation with findings in human serum". *Wld. Neurol.*, 1, 479-490, 1960.
39. CLAUSEN, J.: "Proteins in normal cerebrospinal fluid not found in serum". *Proc. Soc. exp. Biol.*, 107, 170-172, 1961.
40. CLAUSEN, J.: "Some recent methods for fractionation of proteins employed in diagnostic examination of cerebrospinal fluid". *Dan. med. Bull.*, 9, 1-8, 1962.
41. CLAUSEN, J.; DENCKER, J.; GILLAND, O.; MATZKE, J., y SVENNERHOLM, L.: "Panel discussion of proposed standardization of analysis of CSF proteins". *Acta neurol. Scand.*, 41, 125-128, 1965.
42. CLAUSEN, J.; KROGSGAARD, A. R., y QUADE, F.: "Immunoelectrophoretic studies of the cerebrospinal fluid and serum in acute, mainly infectious diseases of the central nervous system". *J. infect. Dis.*, 111, 128-134, 1962.
43. CLAUSEN, J., y MUNKNER, T.: *Immuno-electrophoresis and autoradiography*. H. Peeters (Ed.), *Protides of the biological Fluids*, Proceedings of the 8th Colloquium, Brujas, 1960. Elsevier, Amsterdam, p. 147, 1961.
44. CLAUSEN, J., y MUNKNER, T.: "Transferrin in normal cerebrospinal fluid". *Nature*, 189, 60-61, 1961.
45. COLOVER, J. A.: "A microtechnique for protein concentration suitable for quantitative electrophoresis of cerebrospinal fluid". *J. clin. Path.*, 14, 559-560, 1961.
46. COSGROVE, J. B., y PAMELA AGIUS, B. S.: "Studies in multiple sclerosis. II. Comparison of the beta-gamma globulin ratio, gammaglobulin elevation, and first-zone colloidal gold curve in the CSF". *Neurology*, 16, 197-204, 1966.
47. CUMINGS, J. N.: "Soluble cerebral proteins in normal and oedematous brain". *J. clin. Path.*, 14, 289-294, 1961.
48. CUNNINGHAM, V. R.: "Analysis of native cerebrospinal fluid by the polyacrylamide disc electrophoresis technic". *J. clin. Pat.*, 17, 143-148, 1964.
49. CUTLER, R. W. P.; WATTERS, G. V.; LORENZO, A. V., y BARLOW, C. F.: "The origine and rate of formation of cerebrospinal fluid gammaglobulin in subacute sclerosing leukoencephalitis", (Citado por Tourtelotte, 1968.)
50. CEATAGNON, C., y CHATAGNON, P.: "Etude des protéines cerebrales solubles de L'humain. II. Electrophorèse en gélose et immunoélectrophorèse". *Ann Biol. Clin.*, 7-9, 1-11, 1960.
51. DAWSON, J. R.: "Cellular inclusions in cerebral lesions of epidemic encephalitis". *Arch. Neurol. and Psychiat*, 31, 685, 1934.



52. DE RISIO, C.; INESI, G., y TONINI, G.: "Studies of the proteins of human cerebrospinal fluid by paper electrophoresis". *Conf. n. neurol. (Basel)*, 17, 271-288, 1957.
53. DENCKER, S. J.: "Sex and age as differentiating factors in some cerebrospinal fluid variables". *Kungl. Fysiografiska Sällskapet i Lund Förhandlingar*, 30, 79-89, 1960.
54. DENCKER, S. J.: "Variation of total cerebrospinal fluid proteins and cells with sex and age". *Wld. Neurol.*, 3, 780-781, 1962.
55. DENCKER, S. J.: "Studies on a specific cerebrospinal gamma-globulin component". *Acta neurol. scand.*, 39, 317-322, 1963.
56. DENCKER, S. J.: "Immuno-electrophoretic investigation of cerebrospinal fluid gamma-globulins in multiple sclerosis". *Acta neurol. scand.*, 40, (suppl. 10), 57-64, 1964.
57. DENCKER, S. J.; BRÖNNESTAM, R., y SWAHN, B.: "Demonstration of large blood proteins in cerebrospinal fluid". *Neurology*, 11, 441-444, 1961.
58. DENCKER, S. J., y KOLÁR, O.: "The cerebrospinal fluid gamma-globulin profile in subacute sclerosing leucoencephalitis. An immuno-electrophoretic study". *Acta neurol. scand.*, 41, 135-140, 1965.
59. DENCKER, S. J., y SWAHN, B.: "The diagnostic value of lipoprotein determinations in cerebrospinal fluid". *Acta psychiat. scand.*, 36, 325-336, 1961.
60. DENCKER, S. J., y SWAHN, B.: "Clinical value of protein analysis in cerebrospinal fluid. A micro-immuno-electrophoretic study". *Lunas Universitet Arsskrift N. F.*, 2, 3-54, 1961.
61. DENCKER, S. J., y SWAHN, B.: "Proteins of central nervous origin present in cerebrospinal fluid". *Nature*, 194, 288-289, 1962.
62. DENCKER, S. J.; SWAHN, B., y ÜRSING, B.: "Protein pattern of cerebrospinal fluid during the course of acute polyradiculoneuropathy". *Acta med. scand.*, 175, 449, 1964.
63. DENCKER, S. J., y ZETHRAEUS, S.: "Sex differences in total protein content of cerebrospinal fluid". *Acta psychiat. scand.*, 36, 76-82, 1961.
64. EHRLICH, W. E.: "Die cellulären Bildungsstätten des Antikörper". *Klin. Wschr.*, 33, 315-322, 1955.
65. ESSER, V.: "Die elektrophoretische Untersuchung der Liquoreiweisskörper und ihre klinische Bedeutung". *Münch. med. Wschr.*, 94, 2313-2318, 1952.
66. EWERBECK, H.: "Die elektrophoretische Darstellung normaler menschlichen Liquors". *Klin. Wschr.*, 28, 692-693, 1950.
67. FAGRAEUS, A.: "Antibody production in relation to the development of plasma cells". *Acta med. scand.* (suppl. 204), 130, 3-122, 1948.
68. FISK, A.; CHANUTIN, A., y KLINGMAN, W.: "Observations on a rapidly migrating electrophoretic component of CSF". *Proc. Soc. Exp. Biol.* (N. Y.), 78, 1-3, 1951.
69. FLEISCHMAN, J. B.; PAIN, R. H., y PORTER, R. R.: "Reduction of gammaglobulins". *Arch. Biochem. Biophys. Suppl.*, 1, 174-180, 1962.
70. FRICK, E.: "Immunologische Untersuchungen zur Identifizierung einzelner Liquoreiweisskörper". *Klin. Wschr.*, 38, 1135-1139, 1960.
71. FRICK, E.: "Immuno-electrophoretische Untersuchungen über "spezifische" Proteine im Liquor cerebrospinalis". *Klin. Wochenschr.*, 43, 357-361, 1965.

72. FRICK, E., y SCHEID-SEIDEL, L.: "Immunologische Untersuchungen an Liquoreiweisskörpern". *Z. exper. Med.*, 129, 221-246, 1957.
73. GAVRILESCO, K.; COURCON, J.; HILLION, P.; URIEL J.; LEWIN, J., y GRABAR, P.: "Étude du liquide céphalo-rachidien humain normal par la méthode immuno-électrophorétique". *Bull. Soc. Chim. biol.*, 37, 803-807, 1955.
74. GEINERT, F., y MATIAR, H.: "Das elektrophoretische Proteinspektrum in verschiedener Höhe des Liquorsystems". *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 179, 11-119, 1965.
75. GERHARDT-HANSEN, W., y CLAUSEN, J.: "Electrophoresis and immuno-electrophoresis of extractable proteins in brain tissue". *Dan. med. Bull.*, 9, 9-14, 1962.
76. GILLAND, O.: "Multiple sclerosis classification scheme integrating clinical and CSF findings". *Acta neurol. scand.*, 41, 563-575, 1965.
77. GIMENO, A.; LIAÑO, H., y KREISLER, M.: "Ataxia-Telangiectasia with Absence of IgG". *J. Neurol. Sci.*, 8, 545-554, 1969.
78. GOA, J., y TEVTEN, L.: "Electrophoresis of cerebrospinal fluid proteins in certain neurological diseases". *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 15, 152-158, 1963.
79. GOLDSTEIN, N. P.; HILL, N. C.; MCKENZIE, B. F.; MCGUCKIN, W. F., y SVIEN, H. J.: "Identification and quantification of proteins, glycoproteins and lipoproteins of cerebrospinal fluid". *Med. Clin. N. Amer.*, 44, 1053-1074, 1960.
80. GONZÁLEZ-SASTRE, F., y CAMPOS, J.: "Estudio del E.E.F. en gel de agar-agar de las proteínas del l.c.r.". *Rev. Clin. Esp.*, 105, 5, 363-366, 1967.
81. GOOD, R. A.; ZAK, S. J.; CONDIE, R. M., y BRIDGES, R. A.: "Clinical investigations of patients with agammaglobulinemia and hypogammaglobulinemia". *Pediat. Clin. N. Amer.*, 7, 397-433, 1960.
82. GOODMAN, M., y VULPE, M.: "A quantitative immunochemical method for determining serum and cerebrospinal fluid proteins". *Wld. Neurol.*, 2, 589-601, 1961.
83. GRABAR, P., y BURTIN, P.: *Analyse Immuno-électrophorétique*. Masson, Paris, p. 245, 1960.
84. GRABAR, P.; URIEL, J.; COURCON, J.: "L'analyse immuno-électrophoretique du sérum humain normal. VI. Mobilités électrophorétiques". *Ann. Inst. Pasteur*, 99, 13-27, 1960.
85. GRABAR, P., y WILLIAMS, C. A.: "Méthode immuno-électrophorétique d'analyse de mélanges de substances antigéniques". *Biochim. biophys. Acta*, 17, 67-74, 1955.
86. GRASSMANN, W.; HANNING, K., y KNEDEL, M.: "Über ein Verfahren zur elektrophoretischen Bestimmung der Serumproteine auf Filtrierpapier". *Dtsch. med. Wschr.*, 333, 1951.
87. GRIES, G.; ALY, F. W., y VON OLDERHAUSEN, H. F.: "Zur Methodik der Papierelektrophorese des Liquor cerebrospinalis". *Klin. Wschr.*, 31, 644-649, 1953.
88. HABECK, D.: "Die Papierelektrophorese der Eiweisskörper des Liquor cerebrospinalis". *Psychiat. Neurol. (Basel)*, 139, 185-204, 1960.
89. HABECK, D.: "Die Liquoreiweisskörper bei normalen Pneumencephalogramm". *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 180, 501-508, 1960.
90. HABECK, D.: "Die Liquoreiweisskörper bei fehlender Ventrikelfüllung in Pneumencephalogramm". *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 180, 406-415, 1960.

91. HABECK, D.: "Zur Verminderung des Gesamteiweiss-Gehaltes im Liquor cerebrospinalis (unter besonderer Berücksichtigung der elektrophoretischen Vorfraktion)". *Arch. Psychiat. Nervenkr.*, 202, 354-370, 1961.
92. HEITMANN, R., y UHLENBRUCK, G.: "Über den Nachweis «spezifischer» Proteine im Liquor cerebrospinalis durch die Immunelektrophorese". *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 188, 187-199, 1966.
93. HEREMANS, J. F.: "Immunochemical studies on protein pathology. The immunoglobulin concept", *Clin. Chim. Acta*, 4, 639-646, 1959.
94. HEREMANS, J. F.: *Les Globulines sériques du Système Gamma. Leur Nature et leur Pathologie*. Arscia. Bruselas. Masson. Paris, 1960.
95. HESSELVIK, L.: "An electrophoretic study of normal and pathological body fluids". *Acta med. scand.*, 101, 461-464, 1939.
96. HILL, N. C.; MCKENZIE, B. F.; MCGUCKIN, W. F.; GOLSTEIN, N. P., y SVIEN, H. J.: "Proteins, glycoproteins and lipoproteins in the serum and cerebrospinal fluid of healthy subjects". *Proc. Mayo Clin.*, 32, 686-698, 1958.
97. HOCH, H., y CHANUTIN, A.: "Electrophoretic studies on cerebrospinal fluid". *Proc. Soc. exp. Biol.*, 81, 628-633, 1952.
98. HOCH, H., y CHANUTIN, A.: "Electrophoretic studies on fast moving components of human serum". *J. Biol. Chem.*, 200, 241-249, 1953.
99. HOCHWALD, G. M., y THORBECKE, G. J.: "Use of an antiserum against cerebrospinal fluid in demonstration of trace proteins in biological fluids". *Proc. Soc. exp. Biol.*, 109, 91-95, 1962.
100. HOCHWALD, G. M., y THORBECKE, G. J.: "Trace proteins in cerebrospinal fluid and other biological fluids. I. Effect of various fractionation procedures on beta- trace and gamma-trace proteins and methods for isolation of both proteins". *Arch. Biochem.*, 101, 325-334, 1963.
101. HOCHWALD, G. M., y THORBECKE, G. J.: "Trace proteins in cerebrospinal fluid and other biological fluids. II. Effect of storage and enzymes on the electrophoretic mobility of beta-trace and gamma-trace proteins in cerebrospinal fluid". *Clin. chim. Acta*, 8, 678-684, 1963.
102. HOFF, H., y SCHINKO, H.: "Die Liquordiagnostik der Neuroloues". *Wien. med. Wschr.*, 110, 12-13-14, 1-76, 1960.
103. HOLMBERG, C., y LAURELL, G. B.: "Investigation in serum copper. II. Isolation of the copper containing protein, and a description of some of its properties". *Acta chem. scand.*, 2, 550-556, 1948.
104. IVERS, R. R.; MCKENZIE, B. F.; MCGUCKIN, W. F., y GOLDSTEIN, N. P.: "Spinal fluid gamma-globulin in multiple sclerosis and other neurologic diseases. Electrophoretic patterns in 606 patients". *J. Amer. med. Ass.*, 176, 515-519, 1961.
105. JANSSENS, P. G.; CHARLES, P.; VAN SANDE, M.; KARCHER, D., y LOWENTHAL, A.: "Sur la composition du liquide céphalo-rachidien de sujets atteints de trypanosomiase africaine". *C. R. Soc. Biol.*, 152, 359-362, 1958.
106. JENSEN, K.: "Ceruleplasmin in human cerebrospinal fluid". *Acta neurol. scand.*, 39, 237-241, 1963.
107. KABAT, E. A.; LANDOW, H., y MOORE, D. H.: "Electrophoretic patterns of concentrated cerebrospinal fluid". *Proc. Soc. exp. Biol.*, 49, 260-263, 1942.

108. KABAT, E. A.; MOORE, D. H., LANDOW, H.: "An electrophoretic study of the protein components in cerebrospinal fluid and their relationship to the serum proteins". *J. Clin. Invest.*, 21, 571-577, 1942.
109. KABAT, E. A.; GLUSMAN, M. y KNAUB, V.: "Quantitative estimation of the albumin and gammaglobulin in normal and pathologic cerebrospinal fluid by immunochemical methods". *Amer. J. Med.* 4, 652-662, 1948.
110. KAFKA, V.: *Taschenbuch der praktischen Untersuchungsmethoden der Körperflüssigkeit bei Nerven und Geisteskrankheiten*. 5. Aufl., Karger, Basel, New York, 1948.
111. KAPLAN, A.: "Electrophoresis of cerebrospinal fluid proteins". *Amer. J. Med. Sci.*, 253, 549-555, 1967.
112. KAPLAN y SAVORY (1965): Citados por KAPLAN, A. (1967), cita núm. 7.
113. KARCHER, D.; VAN SANDE, M., y LOWENTHAL, A.: "Micro-electrophoresis in agar gel of proteins of the cerebrospinal fluid and central nervous system". *J. Neurochem.*, 4, 135-140, 1959.
114. KNAAPP, A.: "Über die Papierelektrophorese des Liquor cerebrospinalis". *Arch. klin. exp. Derm.*, 201, 446-477, 1955.
115. KNAAPP, A.: "Die Papierelektrophorese des Liquor cerebrospinalis". *Arztl. Laborat.*, 1, 189-198, 1955.
116. KOLAR, O.: "Immunopathologic observations in subacute sclerosing panencephalitis". *Neurology*, 18, 2, 107, 1968.
117. KOLAR, O.; DENCKER, S. J.; OBRUCNIK, M.; CERNA, I., y SKATULA, Z.: "Zur Bedeutung der gamma G-Globulinfraktion im Hirngewebe bei der subakuten sklerotisierenden Leukoencephalitis". *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 188-222, 1966.
118. KUTT, H.; McDOWELL, F.; CHAPMAN, L.; PERT, J., y HURWITZ, L. J.: "Abnormal protein fractions of cerebrospinal fluid demonstrated by starch gel electrophoresis". *Neurology*, 10, 1064-1067, 1960.
119. LABHART, H.; SCHWEIZER, V., y STAUB, H.: "Mikroelektrophoretische Untersuchungen von normalen und pathologischen Liquor cerebrospinalis". *Confin. neurol.*, 11, 325-339, 1951.
120. LATERRE, CH.: "Les protéines du liquide céphalo-rachidien a l'état normal et pathologique". *Arscia. Bruselas*, 1 vol. de 327 págs. 1965.
121. LATERRE, E. C., y HEREMANS, J. F.: "A note on proteins apparently "specific" for cerebrospinal fluid". *Clin. chim. Acta.*, 8, 220-226, 1963.
122. LATERRE, E. C.; HEREMANS, J. F., y CARBONARA, A. O.: "Immunological comparison of some proteins found in cerebrospinal fluid, urine and extracts for brain and kidney". *Clin. chim. Acta*, 10, 197-209, 1964.
123. LIAÑO, H., y CAMPOS, J.: "La electroforesis del l.c.r. en agar gel y acetato de celulosa. Contribución al diagnóstico de los procesos inflamatorios". Reunión extraordinaria de la Sociedad de Neurología, Neurocirugía y Psiquiatría de Madrid, 1967.
124. LIAÑO, H.; CAMPOS, J., y LOWENTHAL, A.: "El l.c.r. en el Síndrome de Guillain-Barré". Mesa redonda sobre Polirradiculoneuritis aguda de Guillain-Barré, Sociedad de Neurología, Neurocirugía y Psiquiatría de Madrid, 1968.
125. LINK, H.: "Isolation and partial characterization of «trace» proteins and Immunoglobulin G from cerebrospinal fluid". *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 28, 552-559, 1965.

126. LINK, H.: "Immunoglobulin G and low molecular weight proteins in human cerebrospinal fluid. Chemical and immunological characterisation with special reference to multiple sclerosis". *Acta. neurol. scand.*, 43 (supp. 28), 1967.
127. LIPPINCOTT, S. W.; KORMAN, S.; LAX, L. C., y CORCORAN, C.: "Transferates of gamma-globulin between CSF and blood plasma (results obtained on a series of multiple sclerosis patients)". *J. Nucl. Med.*, 6, 632-644, 1965.
128. LISAK, R. P.; HEINZE, R. G.; FALK, G. A., y KIES, M. W.: "Search for antiencephalitogen antibody in human demyelinating diseases". *Neurology*, 18, 2, 122, 1968.
129. LOWENTHAL, A.: *Agar gel Electrophoresis in Neurology*. Elsevier. Amsterdam, 1 vol. de 204 págs., 1964.
130. LOWENTHAL, A.; KARCHER, D., y VAN SANDE, M.: "Electrophoretic studies of central nervous system proteins". *Exp. Neurol.*, 1, 233-247, 1959.
131. LOWENTHAL, A.; KARCHER, D., y VAN SANDE, M.: *Analyse électrophorétique des protéines sériques dans la leucoencéphalite sclérosante subaiguë*. Livre Jubilaire du Dr. Ludo Van Bogaert, Ed. Acta medica belgica, Bruselas, p. 506, 1962.
132. LOWENTHAL, A.; VAN SANDE, M., y KARCHER, D.: "The differential diagnosis of neurological diseases by fractionating electrophoretically the CSF gamma-globulins". *J. Neurochem.*, 6, 51-56, 1960.
133. MAC PHERSON, C. F.: "Purification of the gamma globulin characteristic of cerebrospinal fluid". *Canad. J. Biochem.*, 40, 1811-1818, 1962.
134. MANUEL, Y., y DE ROUEMONT, J.: "Electrophorèse en gel d'amidon du liquide céphalo-rachidien dans le diagnostic des tumeurs intracranienues". *C. R. Soc. Biol.*, 156, 1859-1862, 1962.
135. MARAVI, E.; ARTIEDA, P.; LÓPEZ-BORRASCÁ, A., y MARTÍNEZ-LAGE, J. M.: "Etude immunologique des protéines du liquide céphalo-rachidien". *Rev. Neurol.*, 117, 586, 1967.
136. MATZKE, J., y CLAUSEN, J.: "The diagnostic value of correlated immuno-electrophoretic and agar-gel micro-electrophoretic investigations of the cerebrospinal fluid in patients with neurological symptoms". *Acta neurol. Scand.*, 41, 129-131, 1965.
137. MCMENEMEY, W. H.: "Immunity mechanisms in neurological disease". *Proc. roy. Soc. Med.*, 54, 127-136, 1961.
138. MIES, H. J.: "Einengung von Liquor cerebrospinalis als Vorbereitung sur Papierelektrophorese. Ein einfaches und schonendes verfahren". *Klin. Wschr.*, 31, 159-161, 1953.
139. MORGAN, E. H., y LAURELL, C. B.: "Neuraminidase in mammalian brain". *Nature*, 197, 921-922, 1963.
140. MÜLLER, R.: "Correlation between state of cerebrospinal fluid and clinical picture in disseminated sclerosis". *Acta med. scand.*, 139, 153-163, 1961.
141. NEUMAYER, E.; FERGER, F.; SCHINKO, H., y TSCHABITSCHER, H.: "Das Serumweißbild bei der Multiplen Sklerosis". *Wiener Z. Nervenheilk.*, 13, 1-2, 46-64, 1956.
142. OUCHTERLONY, O.: "Antigen-antibody reactions in gels". *Arkiv för kemi, minerealogi och geologi* 26 B, núm. 14, 1-9, 1948.
143. PARKER, W. C., y BEARN, A. G.: "Studies on the Transferrins of adult serum, cord serum and cerebrospinal fluid. The effect of neuraminidase". *J. Exp. Med.*, 115, 83-105, 1962.

144. PERT, J. H., y KUTT, H.: "Zone electrophoresis of cerebrospinal fluid proteins in starch gel". *Proc. Soc. exp. Biol.*, 99, 181-185, 1958.
145. PETER, A.: "The plasma cells of the cerebrospinal fluid". *J. neurol. Sci.*, 4, 227-239, 1967.
146. PETTE, H., y DORING, G.: "Ueber ein heimliche Panencephalomyelitis". *Deutsch. Ztschr. Nervenheilk.*, 149, 7, 1939.
147. PETTE, D., y STUPP, I.: "Die tau-Fraktion im Liquor cerebrospinalis". *Klin. Wschr.*, 38, 109-110, 1960.
148. PHILIPPART, M.: "Intérêt diagnostique de l'électrophorese en agar dans les cas d'hyperalbuminorachie". *Ann. Soc. roy. Sci. méd. nat.*, 14, 5-55, 1961.
149. PLUM, C. M., y FOG, T.: "Studies in multiple sclerosis". *Acta psychiat. scand.*, 34 (supp. 128), 1-94, 1959.
150. PRESS, E. M.: "A comparative study of cerebrospinal fluid and serum proteins in multiple sclerosis with special reference to the Langmuir colloidal gold reaction". *Biochem. J.*, 63, 367-372, 1956.
151. RADERMECKER, J., y FOSER, CH. M.: "The significance of repetitive paroxysmal electroencephalographic patterns". *Word. Neurol.*, 1, 422, 1960.
152. RAVN, H., y JENSEN, K.: "CSF proteins in the Guillain-Barré syndrome. Immunological studies". *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 65, 93-104, 1965.
153. ROBOZ, E.; HESS, W. C.; FORSTER, F. M., y TEMPLE, D. M.: "Paper electrophoretic studies in multiple sclerosis". *Neurology*, 4, 811-817, 1954.
154. ROSENTHAL, F. D., y SOOTHILL, J. F.: "An immunochemical study of the proteins in cerebrospinal fluid". *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 25, 177-181, 1962.
155. ROSSI, G., y SCHNEIDER, G.: "Electrophoretische Untersuchung von pathologischem Liquor cerebrospinalis". *Klin. Wschr.*, 31, 969-975, 1953.
156. SAIFER, A.; RABINER, A. M.; ORESKES, I., y VOLK, B. W.: "Electrophoretic and chemical serum protein fractions in multiple sclerosis". *Amer. J. med. Sci.*, 225, 287-298, 1953.
157. SAYK, J.: "Ergebnisse neuer liquor-cytologischer Untersuchungen mit dem Sedimentierkammer-Verfahren". *Arztl. Wschr.*, 9, 1042-1046, 1954.
158. SAYK, J.: "Cytologie der Cerebrospinal flüssigkeit-Ergebnisse Vergleichender Untersuchungen". *Jena*, 1960.
159. SAYK, J., y SCHMIDT, R. M.: "Zur Liquordiagnostik bei der multiplen Sklerose". *Arztl. Wschr.*, 11, 788-793, 1956.
160. SCHAPIRA, K., y PARK, D. C.: "Gammaglobulin studies in multiple sclerosis and their application to the problem of diagnosis". *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 24, 121-124, 1961.
161. SCHEID, K. F., y SCHEID, J.: "Studien zur pathologischen Physiologie des Liquor cerebrospinalis". *Arch. Psychiat. Nervenkr.*, 117, 219-250, 312-325, 641-666, 1944.
162. SCHINKO, H., y TSCHABITSCHER: "Der Gamma-Quotient als differentialdiagnostischer Kriterium zwischen Multipler Sklerose und degenerativen Erkrankungen des Nervensystems, unter besonderer Berücksichtigung der Krankheitsdauer". *Wien. Klin. Wschr.*, 71, 417-422, 1959.

163. SCHMIDT, R. M.: "Über die Bedeutung der Liquorpapielektrophorese für die neurologisch-psychiatrische Diagnostik". *Artzl. Wschr.*, 6, 139-141, 1956.
164. SCHMIDT, R. M.: "Zur Liquordiagnostik der sogenannten aseptischen meningoencephalitis und panencephalitis". *Dtsch. Gesundheitswes.*, 15, 2527-2530, 1960.
165. SCHMIDT, R. M.: "Der liquor cerebrospinalis während der Behandlung der Neuroleues". *Dtsch. med. J.*, 16, 190-196, 1965.
166. SCHMIDT, C., y MATIAR, H.: "Das quantitative Verhältnis der serum- und Liquorproteine". *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 174, 443-459, 1956.
167. SCHNEIDER, G., y WALLENIS, G.: "Electrophoretic studies on cerebrospinal fluid proteins". *Scand. J. Lab. Invest.*, 3, 145-150, 1951.
168. SCHULTZE, H. E.; GOLLNER, I.; HEIDE, K.; SCHÖNENBERGER, M., y SCHWICK, G.: "Zur Kenntnis der alfa-Globulin des menschlichen Normal-serums". *Z. Naturforsch.*, 10, 463-473, 1955.
169. SCHULTZE, H. E., y HAUPT, H.: "Charakterisierung von hochgereinigtem Hämopexin". *Naturwiss.*, 48, 696-697, 1961.
170. SCHULTZE, H. E.; HEIDE, K., y HAUPT, H.: "Über ein bisher unbekanntes niedermolekulares beta-dis-globulin des Humanserums". *Naturwiss.*, 48, 719, 1961.
171. SCHULTZE, H. E.; SCHÖNENBERGER, M., y SCHWICK, G.: "Über ein Präalbumin des menschlichen Serums". *Biochim. Z.*, 328, 267-284, 1956.
172. SCHULTZE, H. E., y SCHWICK, G.: "Immunochemischer Nachweis von Proteinveränderungen unter besonderer Berücksichtigung fermentativer Einwirkungen auf Glyco- und Lipoproteine. Immunelektrophoretische Studien". *Behringwerk-Mitteilungen*, 33, 1-28, 1957.
173. SCHULTZE, H. E., y SCHWICK, G.: *Quantitative immunologische Bestimmung von Plasmaproteinen*. H. Peeters, Protides of the biological fluids, Proceeding of the 6th Colloquium, Brujas, 1958, Elsevier, Amsterdam, p. 15, 1959.
174. SJÖQUIST, J.: "Heterogeneity of heavy (gamma) chain preparations from human gamma G-Immunoglobulins". *Nature*, 210, 1182-1183, 1966.
175. SPINA-FRANCA, A.: "Electroforese em papel das proteínas do líquido cefalorraquidiano. IV. Valores normais". *Arq. Neuro. Psiquiat.*, (S. Paulo), 18, 19-28, 1960.
176. SPINA-FRANCA, A.: "Electroforese das proteínas do líquido cefalorraquidiano na cisticercose do sistema nervioso central". *Arq. Neuro. Psiquiat.* (S. Paulo), 18, 301-340, 1960.
177. SPINA-FRANCA, A., y SARAIVA, S.: "Alterações do proteinograma do líquido cefalorraquidiano na polirradiculoneuriti". *Arq. Neuro. Psiquiat.*, 19, 287-294, 1961.
178. STEGER, J.: "Elektrophoretische Untersuchungen des Liquors". *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 171, 1-19, 1953.
179. SVENNILSON, E.: "Further studies on CSF proteins in patients with tumour in the central nervous system". *Acta neurol. scand.*, 41, 133-134, 1965.
180. SVENNILSON, E.; DENCKER, S. J., y SWAHN, B.: "Immunoelectrophoretic studies of cerebrospinal fluid". *Neurology*, 11, 989-995, 1961.
181. TOURTELLOTE, W. W.; HAERER, A. F., y De JONG, R. N.: *Cerebrospinal fluid lipid profiles in various diseases*. H. Jacobs (Ed.), Proceedings of the 4th International Congress of Neuropathology, 1961, München, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, p. 46, 1962.

182. TOURTELLOTTE, W. W., y PARKER, J. A.: "Multiple sclerosis; Correlation between immunoglobulin-G in cerebrospinal fluid and brain". *Science*, 154, 1044, 1966.
183. TOURTELLOTTE, W. W.; PARQUER, J. A.; HERNDON, R. M., y CUADROS, C. V.: "Subacute sclerosing panencephalitis: Brain immunoglobulin-G, measles antibody and albumin". *Neurology*, 18, 2, 117, 1968.
184. TVETEN, L.: "Cerebrospinal fluid proteins in obstructive lesions of the central nervous system". *Acta neurol. scand.*, 41, 80-91, 1965.
185. URIEL, J.: *Les réactions de caractérisation des constituants protéiques après électrophorèse et immuno-électrophorèse en gélose*. In P. Grabar et P. Burtin, *Analyse Immuno-électrophorétique*. Masson, Paris, página 33, 1960.
186. URIEL, J.: "A method for the direct detection of proteolytic enzymes after electrophoresis in agar gel". *Nature*, 188, 853-854, 1960.
187. VAN BOGAERT, L.: "Sur une leucoencephalite sclérosante subaigue". *Rev. Neurol.*, 87, 1, 1952.
188. VAN SANDE, M.: "Contribution à l'étude des protéines cérébrales et de deux enzymes (la lactico-déshydrogénase et la déshydrogénase de l'acide malique) du système nerveux central". *Ann. soc. roy. Sci. méd. nat.*, 15, 1-120, 1962.
189. VAN SANDE, M.; KARCHER, D., y LOWENTHAL, A.: "Examens électrophorétiques des protéines du sérum et du LCR chez des patients atteints de sclérose en plaques". *Acta neurol. bel.*, 57, 5, 407-415, 1957.
190. VOLK, B. W.; SAIFER, A.; RABINER, A., y ORESKES, I.: "Protein profile in multiple sclerosis". *A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat.*, 73, 66-75, 1955.
191. VYMAZAL, J.; DITTRICH, J., y HOVORKOVA, B.: "Bilkovinny změny v moku a séru u neurologických nemocí v dětském věku, zejména vzhledem k diferenciálnímu diagnostice encefalitidy van Bogartovy". *Cs. Neurol.*, 22, 6, 374-382, 1959.
192. WALLENIUS, G.: "Electrophoretic patterns of cerebrospinal fluid and serum compared in normal and pathological conditions". *Acta soc. Med. Upsaliensis*, 57, 138-146, 1952.
193. WARREN, L., y SPEARING, C. W.: "Mammalian sialidase (neuraminidase)". *Biochem. biophys. Research communications*, 3, 489-492, 1960.
194. WEISE, H. J.: "Das Liquoreiweißbild bei dys- und Paraproteinämie". *Klin. Wschr.*, 38, 1040-1046, 1960.
195. WHITAKER, J. N., y LEMMI, H.: "A rapid method for the concentration of cerebrospinal fluid proteins prior to paper electrophoresis". *Techn. Bull. Regist. Med. Techn.*, 36, 91-94, 1966.
196. WIEME, R. J.: "Studies on Agar Gel Electrophoresis". *Arschia, Bruselas*, 1959.
197. WIEME, R. J.: "An improved technique of agar-gel electrophoresis on microscope slides". *Clin. Chim. Acta.*, 4, 3, 317-321, 1959.
198. WIEME, R. J.: *An integrated procedure for agar gel electrophoresis*. H. Peeters (ed.) *Protides of the Biological Fluids, Proceedings of the 11th Colloquium, Brujas, 1963*, Elsevier, Amsterdam, p. 397, 1963.
199. YAHR, M. D.; GOLDENSOHN, S. S., y KABAT, E. A.: "Further studies on the gammaglobulin content of cerebrospinal fluid in multiple sclerosis and other neurological diseases". *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 58, 613-624, 1954.